

Школа: Инженерная школа природных ресурсов
 Направление подготовки: 18.03.01 «Химическая технология»
 Отделение школы (НОЦ): Отделение химической инженерии

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

Тема работы
Исследование влияния солей лития на жизнеспособность лактобактерий

УДК 637.146.34:546.34-38

Студент

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д7Б	Савенкова Анастасия Игоревна		

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Чернова Анна Павловна	К. Х. Н., доцент		

КОНСУЛЬТАНТЫ ПО РАЗДЕЛАМ:

По разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОСГН	Спицына Любовь Юрьевна	К. Э. Н., доцент		

По разделу «Социальная ответственность»

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Гуляев Милий Всеволодович	—		

ДОПУСТИТЬ К ЗАЩИТЕ:

Руководитель ООП	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Михеева Елена Валентиновна	К. Х. Н., доцент		

ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОСВОЕНИЯ ООП

18.03.01 Химическая технология

Образовательная программа: Химическая технология

Специализация: Химическая технология синтетических биологически активных веществ, химико-фармацевтических препаратов и косметических средств

Код компетенции	Наименование компетенции
Универсальные компетенции	
УК(У)-1	Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации, применять системный подход для решения поставленных задач
УК(У)-2	Способен определять круг задач в рамках поставленной цели и выбирать оптимальные способы их решения, исходя из действующих правовых норм, имеющихся ресурсов и ограничений
УК(У)-3	Способен осуществлять социальное взаимодействие и реализовывать свою роль в команде
УК(У)-4	Способен осуществлять деловую коммуникацию в устной и письменной формах на государственном языке Российской Федерации и иностранном(-ых) языке(-ах)
УК(У)-5	Способен воспринимать межкультурное разнообразие общества в социально-историческом, этическом и философском контекстах
УК(У)-6	Способен управлять своим временем, выстраивать и реализовывать траекторию саморазвития на основе принципов образования в течение всей жизни
Общепрофессиональные компетенции	
ОПК(У)-1	Способность и готовность использовать основные законы естественнонаучных дисциплин в профессиональной деятельности
ОПК(У)-2	Готовность использовать знания о современной физической картине мира, пространственно-временных закономерностях, строении вещества для понимания окружающего мира и явлений природы
ОПК(У)-3	Готовность использовать знания о строении вещества, природе химической связи в различных классах химических соединений для понимания свойств материалов и механизма химических процессов, протекающих в окружающем мире
ОПК(У)-4	Владение пониманием сущности и значения информации в развитии современного информационного общества, осознания опасности и угрозы, возникающих в этом процессе, способностью соблюдать основные требования информационной безопасности, в том числе защиты государственной тайны
ОПК(У)-5.	Владение основными методами, способами и средствами получения, хранения, переработки информации, навыками работы с компьютером как средством управления информацией
ОПК(У)-6	Владение основными методами защиты производственного персонала и населения от возможных последствий аварий, катастроф, стихийных бедствий
Профессиональные компетенции	
ПК(У)-1	Способность и готовность осуществлять технологический процесс в соответствии с регламентом и использовать технические средства для

	измерения основных параметров технологического процесса, свойств сырья и продукции
ПК(У)-2	Готовность применять аналитические и численные методы решения поставленных задач, использовать современные информационные технологии, проводить обработку информации с использованием прикладных программных средств сферы профессиональной деятельности, использовать сетевые компьютерные технологии и базы данных в своей профессиональной области, пакеты прикладных программ для расчета технологических параметров оборудования
ПК(У)-3	Готовность использовать нормативные документы по качеству, стандартизации и сертификации продуктов и изделий, элементы экономического анализа в практической деятельности
ПК(У)-4	Способность принимать конкретные технические решения при разработке технологических процессов, выбирать технические средства и технологии с учетом экологических последствий их применения
ПК(У)-5	Способность использовать правила техники безопасности, производственной санитарии, пожарной безопасности и нормы охраны труда, измерять и оценивать параметры производственного микроклимата, уровня запыленности и загазованности, шума, и вибрации, освещенности рабочих мест
ПК(У)-6	Способность налаживать, настраивать и осуществлять проверку оборудования и программных средств
ПК(У)-7	Способность проверять техническое состояние, организовывать профилактические осмотры и текущий ремонт оборудования, готовить оборудование к ремонту и принимать оборудование из ремонта
ПК(У)-8	Готовность к освоению и эксплуатации вновь вводимого оборудования
ПК(У)-9	Способность анализировать техническую документацию, подбирать оборудование, готовить заявки на приобретение и ремонт оборудования
ПК(У)-10	Способность проводить анализ сырья, материалов и готовой продукции, осуществлять оценку результатов анализа
ПК(У)-11	Способность выявлять и устранять отклонения от режимов работы технологического оборудования и параметров технологического процесса
ДПК(У)-1	Способность планировать и проводить химические эксперименты, проводить обработку результатов эксперимента, оценивать погрешности, применять методы математического моделирования и анализа при исследовании химико-технологических процессов
ДПК(У)-2	Готовность изучать научно-техническую информацию, отечественный и зарубежный опыт по тематике исследования

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
 федеральное государственное автономное
 образовательное учреждение высшего образования
 «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)

Школа Инженерная школа природных ресурсов

Направление подготовки (специальность) 18.03.01 «Химическая технология»

Уровень образования Бакалавриат

Отделение школы (НОЦ) Отделение химической инженерии

Период выполнения _____ (осенний / весенний семестр 2020 /2021 учебного года)

Форма представления работы:

бакалаврская работа

(бакалаврская работа, дипломный проект/работа, магистерская диссертация)

КАЛЕНДАРНЫЙ РЕЙТИНГ-ПЛАН выполнения выпускной квалификационной работы

Срок сдачи студентом выполненной работы:	07.06.2021
--	------------

Дата контроля	Название раздела (модуля) / вид работы (исследования)	Максимальный балл раздела (модуля)
15.02.2021	Обзор литературы	20
30.04.2021	Выполнение экспериментов	30
10.05.2021	Разработка раздела «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»	10
20.05.2021	Разработка раздела «Социальная ответственность»	10
25.05.2021	Обработка полученных данных	30

СОСТАВИЛ:

Руководитель ВКР

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Чернова Анна Павловна	к.х.н., доцент		

СОГЛАСОВАНО:

Руководитель ООП

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Михеева Елена Валентиновна	к.х.н., доцент		

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«Национальный исследовательский Томский политехнический университет» (ТПУ)

Школа Инженерная школа природных ресурсов
Направление подготовки (специальность) 18.03.01 «Химическая технология»
Отделение школы (НОЦ) Отделение химической инженерии

УТВЕРЖДАЮ:
Руководитель ООП

(Подпись) (Дата) (Ф.И.О.)

ЗАДАНИЕ на выполнение выпускной квалификационной работы

В форме:

бакалаврской работы

(бакалаврской работы, дипломного проекта/работы, магистерской диссертации)

Студенту:

Группа	ФИО
2Д7Б	Савенковой Анастасии Игоревне

Тема работы:

Утверждена приказом директора (дата, номер)	№ 104-35/с от 14.04.2021

Срок сдачи студентом выполненной работы:	07.06.2021
--	------------

ТЕХНИЧЕСКОЕ ЗАДАНИЕ:

<p>Исходные данные к работе</p> <p><i>(наименование объекта исследования или проектирования; производительность или нагрузка; режим работы (непрерывный, периодический, циклический и т. д.); вид сырья или материал изделия; требования к продукту, изделию или процессу; особые требования к особенностям функционирования (эксплуатации) объекта или изделия в плане безопасности эксплуатации, влияния на окружающую среду, энергозатратам; экономический анализ и т. д.).</i></p>	<p>Объекты исследования: органические соли лития: аскорбат, сукцинат, карбонат; лактобактерии.</p> <p>Провести исследование токсичности солей лития и жизнеспособности лактобактерий при их присутствии, а также изучить влияние</p>
---	--

	солей лития на выход целевого продукта – молочной кислоты.
Перечень подлежащих исследованию, проектированию и разработке вопросов <i>(аналитический обзор по литературным источникам с целью выяснения достижений мировой науки техники в рассматриваемой области; постановка задачи исследования, проектирования, конструирования; содержание процедуры исследования, проектирования, конструирования; обсуждение результатов выполненной работы; наименование дополнительных разделов, подлежащих разработке; заключение по работе).</i>	Литературный обзор по тематике научно-исследовательской работы. Проведение комплекса экспериментов для достижения цели исследования. Анализ и обсуждение результатов проделанной работы. Анализ экономической эффективности и ресурсоэффективности проекта. Анализ рисков и опасностей, возникающих при проведении исследования. Формулирование выводов по работе.
Перечень графического материала <i>(с точным указанием обязательных чертежей)</i>	
Консультанты по разделам выпускной квалификационной работы <i>(с указанием разделов)</i>	
Раздел	Консультант
Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	Спицына Любовь Юрьевна
Социальная ответственность	Гуляев Милий Всеволодович

Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы по линейному графику	29.01.2021
---	------------

Задание выдал руководитель:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент ОХИ	Чернова Анна Павловна	к.х.н., доцент		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д7Б	Савенкова Анастасия Игоревна		

ЗАДАНИЕ ДЛЯ РАЗДЕЛА «ФИНАНСОВЫЙ МЕНЕДЖМЕНТ, РЕСУРСОЭФФЕКТИВНОСТЬ И РЕСУРСОСБЕРЕЖЕНИЕ»

Студенту:

Группа	ФИО
2Д7Б	Савенковой Анастасии Игоревне

Школа	Инженерная школа природных ресурсов	Отделение школы (НОЦ)	Отделение химической инженерии
Уровень образования	Бакалавриат	Направление/специальность	18.03.01 «Химическая технология»

Исходные данные к разделу «Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение»:

1. Стоимость ресурсов научного исследования (НИ): материально-технических, энергетических, финансовых, информационных и человеческих	Бюджет проекта – не более 207 815,8 руб., в т.ч. затраты по оплате труда – не более 72 404 руб.
2. Нормы и нормативы расходования ресурсов	Значение показателя интегральной ресурсоэффективности – не менее 3,95 баллов из 5
3. Используемая система налогообложения, ставки налогов, отчислений, дисконтирования и кредитования	В соответствии с налоговым кодексом Российской Федерации. Отчисления во внебюджетные фонды –30%

Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:

1. Оценка коммерческого потенциала, перспективности и альтернатив проведения НИ с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения	Анализ конкурентных технических решений, оценка готовности проекта к коммерциализации, анализ внутренней и внешней среды проекта (составление SWOT-анализа)
2. Планирование и формирование бюджета научных исследований	Определение этапов работ; определение трудоемкости работ; разработка графика Ганта. Определение затрат на проектирование
3. Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования	Расчет сравнительной эффективности проекта

Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей):

1. Оценка конкурентоспособности технических решений
2. Матрица SWOT
3. Альтернативы проведения НИ
4. График проведения и бюджет НИ
5. Оценка ресурсной, финансовой и экономической эффективности НИ

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	
--	--

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
доцент ОСГН ШБИП ТПУ	Спицына Любовь Юрьевна	К.Э.Н.		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д7Б	Савенкова Анастасия Игоревна		

«СОЦИАЛЬНАЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ»

Студенту:

Группа	ФИО
2Д7Б	Савенковой Анастасии Игоревне

Школа	Инженерная школа природных ресурсов	Отделение (НОЦ)	Отделение химической инженерии
Уровень образования	Бакалавриат	Направление/специальность	18.03.01 «Химическая технология»

Тема ВКР:

Исследование влияния солей лития на жизнеспособность лактобактерий	
Исходные данные к разделу «Социальная ответственность»:	
1. Характеристика объекта исследования (вещество, материал, прибор, алгоритм, методика, рабочая зона) и области его применения	Объектом исследования являются лактобактерии. Рабочая зона – научно-исследовательская микробиологическая лаборатория ОХИ НИ ТПУ, 2 корпус, 222 аудитория ТПУ. Область применения результатов исследования – биотехнология, медицина, ветеринария.
Перечень вопросов, подлежащих исследованию, проектированию и разработке:	
1. Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности:	Рассмотреть специальные правовые нормы трудового законодательства; Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны (2 корпус, 221 аудитория)
2. Производственная безопасность:	Работник подвержен воздействию следующих вредных и опасных факторов: – несоответствующие нормативам параметры микроклимата; – наличие оборудования с горячими поверхностями; – поражение электрическим током; – повышение уровня шума; – работа с вредными веществами; – легковоспламеняющиеся жидкости; микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности.
3. Экологическая безопасность:	– анализ воздействия объекта на атмосферу, гидросферу и литосферу. – решение по обеспечению экологической безопасности.
4. Безопасность в чрезвычайных ситуациях:	– Анализ возможных ЧС при разработке и эксплуатации проектируемого решения; – Выбор наиболее типичной ЧС; – Разработка превентивных мер по предупреждению ЧС; – Разработка действий в результате возникшей ЧС и мер по ликвидации её последствий; – Пожаровзрывоопасность (причины, профилактические мероприятия, первичные средства пожаротушения)

Дата выдачи задания для раздела по линейному графику	
--	--

Задание выдал консультант:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Гуляев Милий Всеволодович	-		

Задание принял к исполнению студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
2Д7Б	Савенкова Анастасия Игоревна		

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа включает 98 страниц, 13 рисунков, 26 таблиц, 41 источников литературы.

Ключевые слова: соли лития, лактобактерии, молочная кислота, токсичность, пробиотики для животноводства.

Объектами исследования являются лактобактерии; соли лития: аскорбат, сукцинат и карбонат лития.

Цель работы – исследование жизнеспособности лактобактерий в присутствии органических солей лития.

В ходе исследования изучалось влияние солей лития на рост лактобактерий в плотной селективной питательной среде методом глубинного культивирования по доле прироста и в жидкой селективной питательной среде по приросту лактобактерий спектрофотометрическим методом, а также влияние солей лития на выход целевого продукта лактобактерий – молочной кислоты методом титриметрии.

В результате исследования установлено, что органические соли лития в определенных диапазонах концентраций, а именно: аскорбат лития – 12,27-27 ммоль/л; сукцинат лития – 10-21,27; карбонат лития 12,27-21,27 ммоль/л не обладают токсичностью в отношении лактобактерий, а также присутствие органических солей лития не увеличивает выход молочной кислоты, продуцируемой лактобактериями.

Область применения: результаты работы могут быть применены в ветеринарии, а также биотехнологии и медицине.

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	14
1 Обзор литературы	15
1.1 Применение пробиотических препаратов для животноводства	15
1.1.1 Роль пробиотиков в животноводстве.....	15
1.1.2 Требования к пробиотикам	19
1.1.3 Классификация пробиотиков.....	21
1.2 Технология изготовления премиксов и их состав	23
1.2.1 Состав и классификация премиксов	23
1.2.2 Технология производства премиксов	27
1.3 Применение солей лития в животноводстве	29
2 Экспериментальная часть.....	33
2.1 Объекты исследования	33
2.2 Приготовление питательной среды и растворов	34
2.2.1 Приготовление питательной среды МРС	34
2.2.2 Приготовление 0,1 Н раствора гидроксида натрия	35
2.2.3 Приготовление стерильной воды	35
2.3 Методики проведения эксперимента	36
2.3.1 Выделение лактобактерий	36
2.3.2 Получение накопительной культуры.....	37
2.3.3 Получение чистой культуры.....	37
2.3.4 Последовательные разведения	37
2.3.5 Метод глубинного культивирования	38
2.3.6 Окраска по Граму.....	39
2.3.7 Исследование жизнеспособности лактобактерий в присутствии солей лития на плотной питательной среде	39
2.3.8 Исследование жизнеспособности лактобактерий в присутствии солей лития спектрофотометрическим методом	40
2.3.9 Определение выхода целевого продукта лактобактерий – молочной кислоты методом титриметрии	40
3. Обсуждение результатов	42
3.1 Получение чистой культуры лактобактерий.....	42

3.2 Исследование токсичности солей лития на лактобактерии	42
3.2.1 Исследование токсичности солей лития в плотной питательной среде	43
3.2.2 Исследование токсичности солей лития на жидкой питательной среде	45
3.2.3 Определение выхода целевого продукта лактобактерий – молочной кислоты методом титриметрии.....	48
4 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение...	51
4.1 Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения	51
4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования	51
4.1.2 Анализ конкурентных технических решений.....	52
4.1.3 SWOT-анализ	54
4.2 Определение возможных альтернатив проведения научных исследований	58
4.3 Планирование научно-исследовательских работ	60
4.3.1 Структура работ в рамках научного исследования.....	60
4.3.2 Определение трудоёмкости выполнения работ.....	61
4.4 Бюджет научно-технического исследования	66
4.4.1 Расчёт материальных затрат НТИ.....	66
4.4.2 Расчёт затрат на специальное оборудование для научных работ.....	67
4.4.3 Расчёт основной заработной платы исполнителей темы.....	69
4.4.4 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления).....	71
4.4.5 Накладные расходы	72
4.4.6 Формирование бюджета затрат научно-исследовательского проекта	72
4.5. Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования	73
5. Социальная ответственность	77
5.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности	78
5.1.1 Специальные правовые нормы трудового законодательства	78
5.1.2 Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны	78
5.2 Производственная безопасность	79

5.3 Экологическая безопасность.....	86
5.4 Безопасность в чрезвычайных ситуациях	87
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	91
СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СТУДЕНТА.....	92
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	93

ВВЕДЕНИЕ

Лактобактерии широко применяются в медицине, пищевых продуктах и ветеринарии для нормализации микрофлоры ЖКТ, активизации иммунной системы человека и животных, поскольку они обладают антагонистической активностью по отношению к патогенным микроорганизмам, а также улучшают обменные процессы, способствуют восстановлению естественного иммунитета.

Соли лития применяются в медицине: для лечения психических расстройств, а также сердечно-сосудистой системы. Также соли лития применяются в животноводстве, поскольку обладают антиоксидантными, иммуностропными и адаптогенными свойствами.

Целью работы является исследование жизнеспособности бактерий рода *Lactobacillus* в присутствии солей лития.

Задачи:

1. Получить накопительную культуру лактобактерий;
2. Получить чистую культуру бактерий *L.plantarum* 8P-A3 из препарата «Лактобактерин» компании ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России;
3. Культивировать лактобактерии на элективной питательной среде Мана-Рогоза-Шарпа (MPC);
4. Определить принадлежность выделенных бактерий к роду *Lactobacillus*;
5. Изучить токсичность солей лития на жизнеспособность лактобактерий;
6. Исследовать влияние солей лития на выход молочной кислоты.

Объектом исследования являются бактерии рода *Lactobacillus* и органические соли лития: сукцинат, аскорбат и карбонат. Предмет исследования – влияние солей лития на рост и жизнеспособность бактерий.

1 Обзор литературы

1.1 Применение пробиотических препаратов для животноводства

В настоящее время активно используются кормовые антибиотики для животных в качестве профилактических и стимулирующих рост средств. Однако, при использовании антибиотиков погибают не только патогенные микроорганизмы, но и полезные, населяющие микрофлору ЖКТ. Поэтому всё большую распространённость приобретает применение пробиотических препаратов в животноводстве. Пробиотики постепенно заменяют необходимость в применении антибиотиков. Так как последние, в свою очередь, негативно влияют на микрофлору животных, а также аккумулируются в органах и тканях животных, что приводит к ухудшению качества получаемой продукции. Также применение антибиотиков имеет ещё один существенный недостаток – это выработка антибиотикорезистентности у различных штаммов микроорганизмов. Этот недостаток сказывается не только на лечении животных, но также опасен и для человечества, так как антибиотикорезистентные микроорганизмы могут передаваться от животного к человеку [1].

1.1.1 Роль пробиотиков в животноводстве

Пробиотики же имеют ряд преимуществ перед кормовыми антибиотиками. Прежде всего, пробиотик – это препарат, содержащий в себе штаммы бактерий, относящихся к нормальной микрофлоре кишечника. Пробиотики обладают антагонистическим воздействием по отношению к широкому спектру патогенных бактерий. Например, штамм *Lactobacillus Plantarum* обладает способностью продуцировать антимикробные вещества, благодаря чему является сильным антагонистом в отношении патогенной и

условно-патогенной микрофлоры ЖКТ [2]. Помимо выделения веществ с антибиотическими свойствами, механизм проявления антагонизма осуществляется также за счёт заселения микрофлоры конкурентоспособными штаммами микроорганизмов, которые вытесняют патогенную и условно-патогенную микрофлору, а также блокируют присоединение патогенов за счёт большой скорости размножения, продуцирования бактериоцинов, органических кислот и других продуктов, изменяющих pH среды [3]. Другой важной в животноводстве функцией пробиотических препаратов является продуцирование пищеварительных ферментов, необходимых для переваривания белков, липидов, углеводов, а также нуклеиновых кислот и клетчатки.

Микроорганизмы нормальной микрофлоры можно подразделить на две группы: эндогенные и экзогенные. Эндогенная группа микроорганизмов постоянно присутствует в разных отделах ЖКТ в разных количествах. Экзогенная группа микроорганизмов имеет внешние причины появления, то есть поступает из внешней среды, например, с кормом.

Механизм действия пробиотика отличается от механизма действия антибиотика. Так действие антибиотика направлено на уничтожение части микробиоты кишечника, что практически всегда вызывает уничтожение также непатогенных микроорганизмов, впоследствии это приводит к дисбактериозу кишечника животного, а также к другим негативным последствиям для всего организма, а действие пробиотика направлено на заселение кишечника полезными, конкурентоспособными штаммами микроорганизмов, часть которых является обычной микрофлорой кишечника, которые вытесняют патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, тем самым регулируют стабильность кишечной микробиоты. Такой метод целенаправленной замены состава микробиоты желудочно-кишечного тракта называется «заместительная терапия», впервые предложенный И.И. Мечниковым [4].

То есть пробиотик положительно влияет на восстановление и поддержание нормальной микрофлоры, что приводит к улучшению работы пищеварительного тракта и активизации иммунной системы животного, а также штаммы бактерий-пробионтов используются в качестве источников ферментов, это приводит к большему усваиванию кормов животными, что ускоряет набор массы животными. Именно поэтому пробиотики получили широкое применение в профилактике и лечении различных заболеваний, таких как сальмонеллез и колибактериоз, дисбактериоз, в повышении резистентности организма, а также в качестве экологически чистых стимуляторов роста при выращивании и откормке молодняка животных [4].

В настоящее время проведено много исследований по использованию пробиотиков в рационе поросят, телят, бройлеров [2, 5–9], а также по замене антибиотиков пробиотиками [11]. В данном исследовании [11] провели сравнительную характеристику применения пробиотика и антибиотика на организм животных. Использовался пробиотик «Клостат» фирмы Kemin, в состав которого входит спорообразующий штамм *Bacillus subtilis* PB6. Так у пробиотика было выявлено множество факторов, благотворно влияющих на организм животного, которые отсутствуют у антибиотика:

- пробиотик продуцирует пищеварительные ферменты: множество амилаз, протеаз, липаз, за счёт чего улучшается пищеварение и усвояемость кормов;
- пробиотик обладает иммуностимулирующим действием;
- пробиотик способствует снятию технологических стрессов, обусловленных вакцинацией, транспортировкам и другими действиями, которые предусмотрены технологией производства;
- пробиотик ускоряет адаптацию животных к высокоэнергетическим рационам;
- пробиотик обладает широким спектром антагонистической способностью, спектр действия антибиотика зависит от самого

антибиотика, но всегда влияет и на полезную микрофлору кишечника;

- пробиотики безопасны для животных, тогда как передозировка антибиотиков смертельно опасна;
- пробиотики безопасны для окружающей среды и потребителей продукции, так как не происходит накопления пробиотика в органах и тканях животных, не образуют резистентности штаммов, тогда как антибиотики аккумулируются в органах и тканях, а также вызывают резистентность штаммов микроорганизмов.

Исследование [5] показывает эффективность и целесообразность использования пробиотика в кормах животных. Использовался пробиотик «Муцинол». Телята были разделены на две группы, первая группа получала только кормовую добавку, содержащую витамины и минералы, но без пробиотика, а вторая – кормовую добавку с пробиотиком. Так по результатам исследования, применение пробиотика способствовало уменьшению заболеваемости, а также более высокой жизнеспособности новорождённых телят, вследствие активизации иммунной системы телят. Другим положительным результатом является значительный прирост массы новорождённых и телят в возрасте 2-4 месяцев, а также среднесуточный прирост и повышение сохранности новорождённых телят.

В данном исследовании [6] доказали обоснованность потребления птицы кормовых добавок, содержащих микроорганизмы. Цыплят разделил на две группы, контрольная получала основной рацион, а опытная премикс с молочнокислой кормовой добавкой, причем было установлено 4 автокормушки, куда по мере поедания насыпали корма: 1-й группе – премикс на основе лактобактерий, 2-й группе – премикс на основе термофильного стрептококка, 3-й группе – премикс на основе бифидобактерий, 4-й группе – премикс на основе пропионовокислой бактерии. В результате данное

исследование подтвердило необходимость потребления цыплятами кормовых добавок на основе микроорганизмов: показатели опытной группы превосходили показатели контрольной группы: показатель роста по живой массе на 8,8%, показатель среднесуточного прироста на 8,9%, а затрат корма на единицу продукции на 3,1%. Также было выявлено, что цыплята отдавали больше предпочтение кормам, содержащим монокультуры, входящие в основу кишечной микробиоты, то есть лакто- и бифидобактериям.

В свиноводстве использование пробиотиков тоже несёт положительные результаты. Так в данном исследовании [8] использовали пробиотик «Моноспорин», в состав которого входит штамм спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* на поросятах-сосунах. Контрольной группе давали основной рацион, а опытной к основному рациону добавляли пробиотик. Так использование пробиотика для поросят в подсосный период повысило их сохранность на 6,9%. Масса животных опытной группы за 60 дней была больше на 16,3%, а среднесуточный прирост массы был больше на 17,6%.

Исследования [2, 5-9] проведены с использованием различных пробиотиков на поросятах, бройлерах, телятах доказывают, что пробиотики положительно влияют на зоотехнические показатели всех видов сельскохозяйственных животных, и могут быть успешно включены в состав кормов или премиксов.

1.1.2 Требования к пробиотикам

К производимым пробиотикам для их успешного применения имеется ряд требований. Так пробиотики должны соответствовать следующим критериям [10]:

- отсутствие патогенности и токсичности;

- сохранение жизнеспособности как в процессе приготовления препарата, так и при прохождении через желудочно-кишечный тракт, что предполагает их устойчивость к низкому рН желудка и к желчи;
- высокая ферментативная, синтетическая и метаболическая активность;
- штаммы бифидо-и лактобактерий должны обладать выраженными адгезивными и ростовыми свойствами, необходимыми для быстрой колонизации слизистой оболочки кишечника и препятствию заселению патогенной и условно-патогенной микрофлорой;
- угнетение роста кишечных патогенов и способность вытеснять их из кишечного микробиоценоза, то есть должны обладать антагонистическим свойством.

Этим критериям соответствуют представители индигенной микрофлоры как человека, так и животных, такие как бифидобактерии, лактобактерии, эшерихии и энтерококки, данные о количественном составе в ЖКТ животных представлено в таблице 1. Поэтому лакто- и бифидобактерии, как микроорганизмы эндогенной микробиоты, наиболее часто применяются при создании пробиотических препаратов. Однако, в последнее время большое количество внимания приходится на применение спорообразующих бактерий рода *Bacillus* и пропионовокислой бактерии рода *Propionibacterium freudenreichii*.

Таблица 1. Микрофлора нижних отделов желудочно-кишечного тракта животных [12]

Название микробных групп (родов или видов)	Количество микробов в 1 г материала из кишечника
--	--

Бифидобактерии	$10^7 - 10^{10}$
Лактобактерии	$10^5 - 10^7$
Бактероиды	$10^{10} - 10^{11}$
Клостридии	$10^4 - 10^5$
Эшерихии	10^7
Энтерококки	$10^6 - 10^7$

Также стоит отметить, что использование сразу нескольких штаммов микроорганизмов при создании пробиотика более действенно, чем только один штамм. Так в исследовании [13] изучили антагонистическое свойство пробиотика и отдельных штаммов, входящих в состав этого пробиотика. В результате совместное использование штаммов в симбиотике в разы увеличивает антимикробную активность, чем раздельное использование штаммов.

1.1.3 Классификация пробиотиков

Пробиотики выпускаются в сухом и жидком виде, обе формы практически одинаково эффективны. Жидкая форма применяется для аэрозольного опрыскивания поголовья и обработки помещений. Сухая форма обладает большой технологичностью и удобна в применении. Её можно добавлять в комбикорма, концентраты, включать в состав различных премиксов.

Единой классификации пробиотиков нет. Можно выделить несколько групп:

1. Бактериальные и небактериальные.

Микроорганизмы, используемые в бактериальных пробиотиках, делятся на три группы:

- аэробы – бактерии, не требующие кислорода для жизнедеятельности. К ним относятся бактерии рода *Bacillus*;
- анаэробы – бактерии, для жизнедеятельности которых необходим кислород. К ним относятся бактерии рода *Clostridium*;
- бактерии, продуцирующие молочную кислоту, такие как *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*.

Небактериальные пробиотики включают в себя дрожжи и грибы, представителями которых являются такие культуры как *Aspergillus oryzae*, *Candida parapsilosis*, *Saccharomyces boulardii* и *Saccharomyces cerevisiae* [14].

2. Спорообразующие или неспорообразующие.

К неспорообразующим пробиотикам относятся бифидобактерии и лактобактерии. В последнее время в промышленном животноводстве и птицеводстве широкое применение получили спорообразующие бактерии рода *Bacillus*.

3. Однокомпонентные и поликомпонентные.

Однокомпонентные пробиотики включают в себя один штамм микроорганизмов, а поликомпонентные пробиотики или симбиотики включают в свой состав несколько штаммов одного или различных видов микроорганизмов.

4. Аллохтонные и автохтонные.

Микроорганизмы, используемые в качестве пробиотиков, которые обычно не присутствуют в ЖКТ животных, например, дрожжи, называются аллохтонными. Автохтонные пробиотики включают в свой состав микроорганизмы – коренные обитатели ЖКТ, такие как лактобациллы и бифидобактерии [15].

1.2 Технология изготовления премиксов и их состав

Помимо пробиотических препаратов для повышения продуктивности сельскохозяйственных животных, в их корма часто включают другие добавки – премиксы. Премикс – это предварительно смешанная однородная смесь биологически активных веществ с наполнителем [16]. Данные добавки в комбикорма используются для различных видов сельскохозяйственных животных: для крупного-рогатого скота, для бройлеров и кур-несушек, а также в свиноводстве.

В настоящее время премиксы или балансирующие добавки широко используются при интенсивном ведении животноводства, так как дефицит витаминов, макро- и микроэлементов в организме животных ведёт к негативным последствиям, таким как снижение активности ферментов, гормонов, в состав которых они входят или активизируют. Вследствие этого нарушаются процессы обмена веществ, энергии, снижается иммунитет, что ведёт к уменьшению продуктивности сельскохозяйственных животных.

1.2.1 Состав и классификация премиксов

Состав премиксов зависит от многих факторов, например, от их сельскохозяйственной группы, от возраста животных, а также сезонности использования. Премиксы делятся на две группы: простые и сложные. К простым относятся витаминные, минеральные и витаминно-минеральные премиксы. В состав сложных могут входить аминокислоты, энзимы, пробиотики, пребиотики, сорбенты токсинов, а также вкусо-ароматические добавки [17]. Исходя из этого можно выделить типичный состав премиксов:

- витамины – А, В, С, Е, D, К, РР;

- микро- и макроэлементы – железо, медь, кобальт, селен, йод, марганец, магний, сера, фосфор, натрий, кальций;
- наполнитель

Дополнительно в составе премиксов может использоваться:

- аминокислоты – лизин, метионин и другие;
- противомикробные средства;
- про- и пребиотики;
- кокцидиостатики;
- антиоксиданты;
- вкусо-ароматические добавки.

Витаминные премиксы предназначены для обогащения корма витаминами. В составе таких премиксов витамины могут быть включены отдельно или в комплексе. Производятся в виде растворов, порошков и таблеток. Добавляются в воду или корм, поскольку для усвоения витаминов необходима среда – вода или жир для растворения, также есть возможность внутримышечного или подкожного введения препарата. В таблице 2 приведены свойства витаминов в организме животных.

Таблица 2 – Характеристика витаминного состава [4]

Витамин	Значение
Ниацин (витамин В3 или РР)	Участвует во многих окислительно-восстановительных реакциях, образовании ферментов и обмене липидов и углеводов в живых клетках.
Витамин А (ретинол)	Витамин роста. Также необходим для непрерывного развития слизистых оболочек кишечника, устранения болезней органов

	зрения, также снижает вероятность рождения мёртвого или слабого плода.
Витамины группы В	Витамины группы В или их производные входят в состав многих ферментов, которые влияют на активность обменных процессов в организме. Необходимы для нормального функционирования нервной системы, желёз внутренней секреции.
Витамин С (аскорбиновая кислота)	Участвует в регулировании окислительно-восстановительных процессов, образовании стероидных гормонов, повышает сопротивляемость организма к инфекционным заболеваниям и стрессам, обладает антиоксическим свойством.
Витамин D	Основная функция – регуляция обмена кальция и фосфора, а также транспортировки и накопления их в костных тканях. Используется для профилактики деформации скелета и суставов (рахитизм) у молодых животных.
Витамин Е	Защищает целостность эпителиальных и слизистых тканей, также необходим для профилактики мышечных заболеваний у животных. Является биологическим антиоксидантом, способствует стимуляции иммунитета.
Витамин К (филлохинон, менадион)	Повышает свёртываемость крови, обладает бактериостатическим действием, защищает здоровье костей, играет важную роль в профилактике ожирения. Необходим для хорошего роста животного.

Минеральные премиксы включают в состав различные макро- и микроэлементы, обычно всегда производятся витаминно-минеральными комплексами в виде порошков, гранулах и таблеток. Минералы получают химическим синтезом, ферментацией или размолот исходного вещества. Химически полученные компоненты являются самыми доступными и недорогими, но имеют недостаток – увеличивают риск для здоровья животных из-за воздействия химических растворителей, не прореагировавших промежуточных соединений. Нехватка того или иного микроэлемента ведёт к негативным последствиям, в таблице 3 представлена необходимость в потреблении достаточного количества минеральных компонентов.

Таблица 3 – Характеристика минерального состава

Минерал	Значение
Железо	Участвует в окислительно-восстановительных реакциях, синтезе гемоглобина.
Цинк	Принимает участие в процессе ферментации пищи в кишечнике. Предотвращает потерю аппетита, замедление роста и проблемы с кожей.
Медь	Необходима для синтеза гемоглобина и формирования костной ткани. Принимает участие во всех окислительных процессах.
Йод	Необходим щитовидной железе для производства гормона тироксина, регулирующего метаболизм организма.
Кобальт	Необходим для синтеза витамина В12 в организме, также предотвращает замедление роста и анемию.
Селен	Близок по физиологическим функциям к витамину Е [19]. Обладает антиоксическим действием и антиоксидантным действием. Необходим для развития клеток, участвует в поддержании иммунной системы.

	Играет существенную роль в процессах обмена белков, углеводов и витаминов С.
--	--

Также премиксы можно классифицировать по их назначению. Так есть премиксы профилактического назначения и лечебного. В профилактических премиксах дозировка БАВ рассчитана на здоровую популяцию, развивающуюся в условиях сельскохозяйственного комплекса. В лечебных премиксах выше дозировка БАВ, а также в них входят значительно большее количество компонентов, например, антибиотики, пробиотики, кокцидиостатики, такие БАВ чаще всего применяются для лечения инфекционных, а также других заболеваний. Стоит отметить, что цена таких премиксов выше, чем профилактических.

1.2.2 Технология производства премиксов

При производстве премиксов используются десятки компонентов. Все премиксы изготавливаются по определённому рецепту – набору компонентов, входящих в состав добавки в процентом или весовом выражении. Однако, на этом этапе могут возникать проблемы обеспечения высокой сохранности используемых препаратов, а также устранения антагонистического эффекта между отдельными компонентами, например витаминами и микроэлементами. Решением этих проблем является подбор биологически совместимых компонентов и использование стабилизированных препаратов, а также введение в состав антиоксидантов и создание оптимальных условий хранения [19].

Выбор наполнителя – важный этап. Его функция – это равномерное распределение биологически активных веществ в объёме премикса. Для этого наполнитель должен обладать некоторыми свойствами: быть рыхлым, лёгким.

Обычно для достижения этих свойств премикс содержит 10-15% целлюлозы. Также он должен обладать хорошей сыпучестью для более точной дозировки, дисперсность должна составлять не более 1,25 x 1,25 мм для прохода через сито, то есть дисперсность должна быть близка к плотности БАВ, что составляет 0,25-0,35 г/см³ [20]. Обычно наполнителем являются отруби, измельченное зерно и продукты его переработки, а также жмых, кормовые дрожжи, шрот [18].

Рассмотрим основные технологические операции приготовления премикса – очистка, измельчение, дозирование и смешивание сырья [21].

Операция по измельчению сырья для производства премиксов является очень важной. Измельченные компоненты лучше смешиваются и хорошо усваиваются животными. При измельчении наполнителя и других микрокомпонентов, входящих в состав премикса, используются молотковые дробилки, оснащённые решетками с диаметром отверстий – от 1 до 2 мм.

Дозирование – ответственная операция, которая обеспечивает включение определённого компонента в максимально точно измеренном количестве, которое предусмотрено рецептом данного премикса. Обычно разовые дозы введения микрокомпонентов в премикс составляют от 0,005 до 2 кг. Для этой операции используют установки для многокомпонентного дозирования. Во избежание неконтролируемого смешивания компонентов каждый из них перед дозированием загружается и хранится строго в определённой для него ёмкости.

Смесь должна получиться максимально гомогенной для более равномерного распределения каждого из микрокомпонентов по объёму смеси. Под гомогенной смесью понимают получение такой смеси, в любой единице объёма которой содержится заданное рецептом количество каждого компонента. Для достижения этой цели в технологических схемах производства премиксов предусматривают ступенчатое смешивание

компонентов с изготовлением предварительных смесей, например, витаминные и минеральные. Компоненты вносятся последовательно по градиенту их плотностей, первыми вносят компоненты с наименьшей плотностью. Однако, на производствах, оснащённых более современным и технологичным оборудованием, применяют одноступенчатое смешивание.

Далее готовый премикс поступает из смесителя через промежуточный бункер и транспортные механизмы в весовой автомат, который по порциям определённого объёма его упаковывает.

При разработке технологической линии производства премиксов важно контролировать качество используемого сырья, точное дозирование компонентов строго по рецепту, однородное распределение смешивающихся компонентов, а также учитывать особенности, которые позволят сохранить активность вводимых БАВ в процессе смешивания, транспортировки и хранения.

1.3 Применение солей лития в животноводстве

В последнее время набирают популярность исследования, связанные с изучением действия различных соединений солей лития, так как соли лития обладают антиоксидантным [22], иммуностропным [23] и адаптогенными [24] свойствами. Так многие препараты солей лития являются перспективными лекарственными средствами.

Соли лития, помимо в медицине, можно применять и в животноводстве для повышения продуктивности животных, неспецифической резистентности, а также как адаптогенное средство в борьбе с различными видами стресса [24]. Для этого необходим контроль и поддержание функций нервной, иммунной и антиоксидантной систем организма. Такая необходимость связана с тем, что в процессе выращивания используются различные технологии для увеличения

продуктивности и уменьшения затрат на агропроизводство, вследствие чего животные испытывают техногенные стрессы, которые сопровождаются образованием избыточного числа свободных радикалов, неблагоприятно влияющих на обмен веществ, а следовательно, на здоровье животных, что ведёт к снижению их продуктивности, ухудшению качества продукции, повышению стоимости затрат на её производство.

В настоящее время наименее изученными звеньями в системе запуска стрессовых состояний являются процессы свободнорадикального окисления. К развитию окислительного стресса приводят различные факторы, такие как усиление свободнорадикального перекисного окисления липидов и депрессия ферментов антиоксидантной защиты, а он, в свою очередь, вызывает поражение внутренних органов животных [25]. Такие состояния при их развитии остаются долго незамеченными, поэтому не проводится своевременная профилактика метаболических отклонений у животных, что приводит к экономически отрицательным последствиям для хозяйства в целом.

В связи с этим актуальным является поиск биотехнологических препаратов, способных повышать стрессоустойчивость, неспецифическую резистентность животных, снижать затрат кормов, труда и финансовых средств.

В настоящее время активно изучаются свойства и влияние на организм животных и человека неорганических и органических солей лития. Наиболее широко известны: цитрат лития, карбонат лития, аскорбат лития, цитрат лития соли лития оксиглицина и гамма-аминомасляной кислоты и другие [24-26].

Механизмы действия ионов лития до конца не изучены. Установлено, что соли лития являются психотропными препаратами. Соли лития быстро всасываются после приёма внутрь и диссоциирует в организме. Ионы лития выступают как антагонист ионов натрия, так как влияют на транспорт ионов

натрия в нервных и мышечных тканях. Также литий уменьшает количество норадреналина посредством внутриклеточного дезаминирования [22].

Наиболее изученной солью лития является карбонат лития. Однако, его применение затруднено, так как данная соль обладает токсичностью, вследствие чего высокие дозы этой соли вызывают побочные эффекты. Так длительное применение данной соли вызывает отравление у животных и другие отклонения [27]. Поэтому, в последнее время большой интерес представляют органические соли лития, в частности аскорбат лития, который обладает высокой эффективностью. Данная соль относится к 4 классу опасности (вещества малоопасные), обладает широким спектром терапевтических действий, а главное, безопасен при длительном применении. Так аскорбат лития в 10 раз эффективнее карбоната лития, то есть для достижения одного и того же эффекта доза аскорбата лития потребуется ниже в 10 раз, чем карбоната, а также аскорбат лития в 8 раз менее токсичен карбоната лития [26].

В данном исследовании [26] изучили эффективность использования аскорбата лития для повышения стрессоустойчивости и продуктивности цыплят-бройлеров. В результате опытные группы были более продуктивными, чем контрольная, а также сохранность поголовья у опытных групп выше контрольной. Так, применение солей лития в комбикормах позволяет увеличить живую массу на 4,5-6,2% при снижении затраты кормов на единицу продукции. Благодаря этому повышается уровень рентабельности ведения сельского хозяйства на 2,21%.

Аскорбат лития проявляет выраженные адаптогенные и стрессопротекторные свойства, что доказывается в данном исследовании [27]. Аскорбат лития в дозировке 10, 5 и 2 мг/кг давали с кормом свиноматкам. Их продуктивность также увеличилась по сравнению с контрольной группой.

В исследовании [24] помимо повышения мясной продуктивности бычков при приеме солей лития, было выявлено, что мясная продукция получается качественной и экологически безопасной.

Так наиболее перспективными препаратами в борьбе со стрессами животных являются препараты солей лития, обладающие нейропротекторными, а также антиоксидантными свойствами, предотвращающие избыточное образование свободных радикалов, которые образуются при технологических и спонтанных стрессах. Органические соли лития более безопасны в применении. Аскорбат лития обладает наибольшей эффективностью, проявляет явные адаптогенные и стрессопротекторные, а также иммуностропные свойства.

2 Экспериментальная часть

В данной главе представлена информация об объектах и методах проведения исследования.

Исследования по данной тематике связаны с работой с химическими реактивами, а также с использованием микроорганизмов, поэтому требуют строгого соблюдения техники безопасности и правил работы в лаборатории. Для обеспечения необходимых для работы условий лаборатория оснащена следующим оборудованием:

1. Ламинарный бокс II класса EscoStreamlineSC2-4A1;
2. Автоклав DAIHAN WiseClave WAC-80;
3. Шейкер-термостат WiseCube WIS-20;
4. Бинокулярный микроскоп MC-100;
5. Весы лабораторные аналитические ACCULAB ALC 210;
6. Дистиллятор 3,5 л/ч;
7. УФ-Спектрофотометр Agilent Cary60;
8. Дозаторы Thermo Scientific.

2.1 Объекты исследования

Исследование влияния лития на бактерий проводили с использованием штаммов бактерий рода *Lactobacillus*. Штамм *Lactobacillus fermentum* 90T-C4 выделен из препарата «Лактобактерин» МИКРОГЕН НПО АО ВИРИОН (г. Томск).

В качестве органических соединений лития были выбраны аскорбат, сукцинат и карбонат (Рисунок 1).

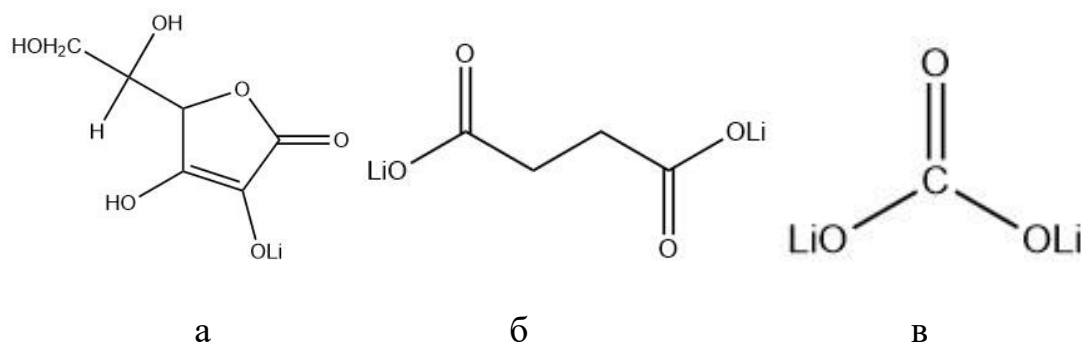


Рисунок 1 – Структурные формулы аскорбата (а), сукцината (б) и карбоната (в) лития

2.2 Приготовление питательной среды и растворов

Приготовление питательной среды включает в себя дозирование и взвешивание компонентов питательной среды, которые могут находиться в твердом или жидком виде, собственно приготовление питательной среды и ее стерилизацию.

2.2.1 Приготовление питательной среды МРС

Для культивирования лактобактерий существует большое множество питательных сред. В данной работе использовалась элективная питательная среда Мана-Рогоза-Шарпа (МРС). Состав питательной среды представлен в таблице 1.

Таблица 4 – Состав питательной среды МРС

Компонент	Содержание (г/л)
Дрожжевой экстракт	4,0
Мясной экстракт	10,0
Глюкоза	20,0
Хлорид аммония	2,0

Лимонная кислота	1,0
Твин 80	1,0
Калий (двузамещенный) фосфорнокислый	2,0
Магний сернокислый семиводный	0,2
Марганец сернокислый четырёхводный	0,05
Агар бактериологический	20,0
Карбонат кальция	20,0

Для приготовления готовой питательной среды первым этапом взвешивают все компоненты на аналитических весах, затем все компоненты растворяют в дистиллированной воде путём нагревания до 70 °С, после чего раствор кипятят в течение двух минут. Стерилизацию питательной среды проводят насыщенным паром в автоклаве 30 минут при 121 °С и давлении 1,5 атм.

2.2.2 Приготовление 0,1 Н раствора гидроксида натрия

0,1 Н раствор гидроксида натрия готовили из фиксанала гидроокиси натрия. В мерную колбу объемом 1000 см³ добавляли содержимое ампулы, добавляли дистиллированную воду, интенсивно перемешивали, затем водой дистиллированной довели объем колбы до метки.

2.2.3 Приготовление стерильной воды

Воду дистиллированную разливали по 9 мл в пробирки, закрывали марлевыми пробками, сверху накрывали пергаментом. Автоклавировали 30 минут при 121 °С и 1,5 атм.

2.3 Методики проведения эксперимента

Для изучения влияния соединений лития на жизнедеятельность бактерий рода *Lactobacillus* были проведены следующие этапы:

1. Выделение бактерий из препарата «Лактобактерин» МИКРОГЕН НПО АО (г. Томск).
2. Получение чистой культуры лактобактерий.
3. Исследование токсичности солей лития на лактобактерии.
4. Определение молочной кислоты методом титриметрии.

2.3.1 Выделение лактобактерий

Для дальнейших исследований жизнеспособности лактобактерий в присутствии солей лития необходимо получить чистую биомассу культуры лактобактерий. Схема выделения лактобактерий представлена на рисунке 2.



Рисунок 2 – Схема выделения лактобактерий

2.3.2 Получение накопительной культуры

Для получения накопительной культуры лактобактерий 1 мл образца препарата «Лактобактерин», содержащего два штамма лактобактерий (*Lactobacillus plantarum* 8P-A3 и *Lactobacillus fermentum* 90T-C4) перенесли в колбу с 100 мл жидкой селективной питательной средой МРС. Инкубировали в термостате-шейкере WiseCube в течение 20 часов при температуре 37 °С и скорости перемешивания – 80 об/мин.

2.3.3 Получение чистой культуры

Чистую культуру лактобактерий получили путём посева накопительной культуры лактобактерий на плотную среду МРС с добавлением мела. Посев в чашки Петри проводили после череды последовательных разведений. Пересеяли четвертое и пятое разведение методом глубинного посева. Поставили чашки Петри инкубироваться в термостат при температуре 37 градусов в течение 48 часов. Из зон с растворением мела отобрали отдельные колонии чистых культур лактобактерий.

2.3.4 Последовательные разведения

Стерильную воду разливают по 9 мл в стерильные пробирки. Стерильным дозатором переносят в первую пробирку 1 мл суспензии накопительной культуры лактобактерий – первое разведение (1:10). Меняют наконечник и перемешивают первое разведение, затем отбирают из этой

пробирки 1 мл и переносят во вторую пробирку – получают второе разведение (1:100). По схеме (рисунок 3) было проведено 5 разведений.

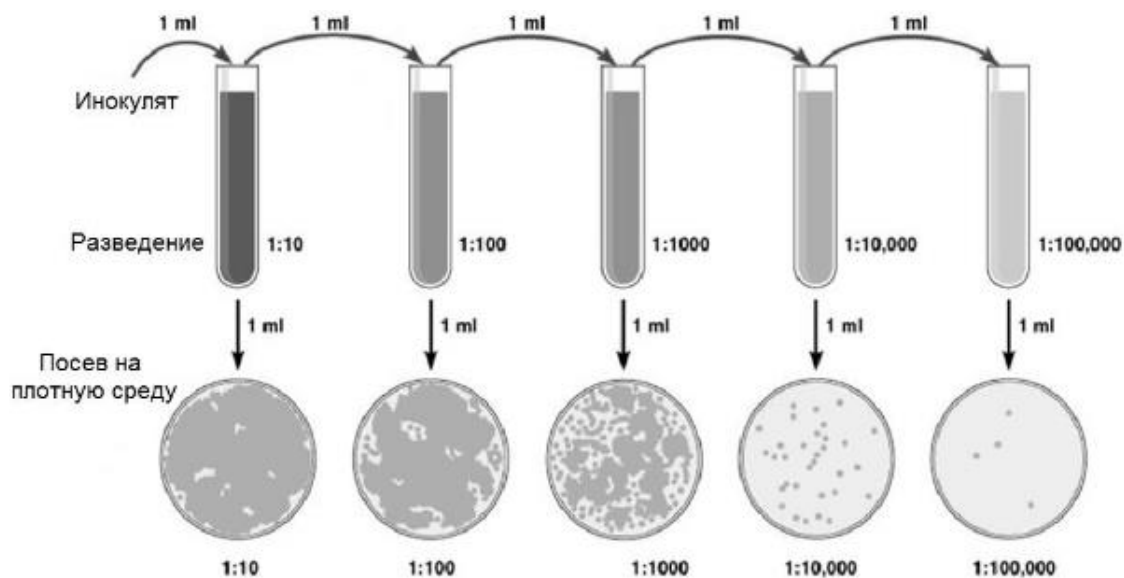


Рисунок 3 – Метод разведений

2.3.5 Метод глубинного культивирования

Поскольку лактобактерии являются факультативными анаэробами, для их культивирования в плотной питательной среде используют метод глубинного культивирования. В стерильную чашку Петри дозатором вносят 1 мл суспензии микроорганизмов, затем 15-20 мл остуженной до 45 градусов плотной питательной среды МРС вливают в чашку и аккуратно перемешивают. Оставляют чашку на горизонтальной поверхности до застывания питательной среды. Помещают чашки Петри в термостат на 48 часов при температуре 37 °С.

2.3.6 Окраска по Граму

1) Приготовили фиксированный препарат: на обезжиренное предметное стекло нанесли каплю исследуемой культуры, распределили на площади 4 см² и высушили на воздухе. Провели фиксацию в пламени горелки.

2)Окрасили в течение 2 мин карболовым генциановым. Краситель смыли, не промывая.

3)Нанесли на мазок раствора Люголя на 2 мин, после чего раствор Люголя слили.

4)Нанесли на мазок 96%-й этиловый спирт на 30-45 сек. Быстро промыли водой.

5)Окрасили мазок водным раствором фуксина в течение 2 минут. Краситель слили, препарат промыли водой и высушили.

6)Провели микроскопирование. Грамположительные бактерии имеют сине-фиолетовый, грамотрицательные –розово-красный цвет.

2.3.7 Исследование жизнеспособности лактобактерий в присутствии солей лития на плотной питательной среде

Для проведения исследования использовали следующие соли: аскорбат, сукцинат и карбонат лития. Исследование проводили в несколько этапов для определения оптимальной концентрации соли, в которой наблюдается максимальный рост лактобактерий.

Так первым этапом провели исследование при следующих концентрации исходных солей: 12,27 ммоль/л, 21,27 ммоль/л, 50 ммоль/л. Затем изменяли концентрации для каждой соли согласно росту лактобактерий.

Так для аскорбата были использованы следующие концентрации: 20 ммоль/л, 23 ммоль/л, 25 ммоль/л, 27 ммоль/л, 30 ммоль/л; для сукцината: 0,5 ммоль/л, 1,5 ммоль/л, 2,0 ммоль/л, 2,5 ммоль/л, 5 ммоль/л, 7,5 ммоль/л, 10 ммоль/л, 15 ммоль/л; для карбоната: 15 ммоль/л, 27 ммоль/л, 30 ммоль/л.

2.3.8 Исследование жизнеспособности лактобактерий в присутствии солей лития спектрофотометрическим методом

Для культивирования бактерий использовались жидкие питательные среды МРС с содержанием солей лития различной концентрации: аскорбата лития – 13,5 ммоль/л, 21,27 ммоль/л, 27 ммоль/л; сукцината лития – 10 ммоль/л, 15 ммоль/л, 21,27 ммоль/л; карбоната лития – 15 ммоль/л, 21,27 ммоль/л, 25 ммоль/л; для контроля – без солей лития. В качестве посевного материала использовали 5 об% 20-ти часовой культуры лактобактерий. После внесения инокулята культивировали в течение 12 часов при температуре 37°C при скорости перемешивания 80 об/мин в термостате-шейкере WiseCube.

Для определения роста бактерий использовали спектрофотометрический метод. Мутность среды измеряли через 0, 4, 8, 10, 12 часов культивирования бактерий на спектрофотометре Aglient Carry 60 при длине волны 540 нм и толщиной кюветы, равной 1 см.

2.3.9 Определение выхода целевого продукта лактобактерий – молочной кислоты методом титриметрии

Для культивирования бактерий использовались жидкие питательные среды МРС с содержанием солей лития различной концентрации: аскорбата

лития – 13,5 ммоль/л, 21,27 ммоль/л, 27 ммоль/л; сукината лития – 10 ммоль/л, 15 ммоль/л, 21,27 ммоль/л; карбоната лития – 15 ммоль/л, 21,27 ммоль/л, 25 ммоль/л; для контроля – без солей лития. В качестве посевного материала использовали 5 об% 20-ти часовой культуры лактобактерий. После внесения инокулята культивировали в течение 12 часов при температуре 37°C при скорости перемешивания 80 об/мин в термостате-шейкере WiseCube.

Количество молочной кислоты определяли титриметрическим методом. Для определения молочной кислоты отбирали по 1 мл среды через 4, 8, 10, 12 часов культивирования бактерий, разбавляли 2 мл дистиллированной воды и 1-2 капли фенолфталеина. В качестве титранта использовали 0,1н раствор NaOH. Титрование проводили при постоянном взбалтывании до появления устойчивой слабо-розовой окраски.

4 Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение

Введение

Объектом исследования являются лактобактерии, а также соли лития: аскорбат, сукцинат и карбонат лития. Целью данного раздела является анализ исследуемых технологий с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения. В разделе произведены оценка коммерческого потенциала разработки, сравнение данной исследовательской работы с конкурентными решениями, планирование исследовательского процесса и расчет бюджета работ.

4.1 Оценка коммерческого потенциала и перспективности проведения научных исследований с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения

4.1.1 Потенциальные потребители результатов исследования

Для анализа потребителей результатов исследования необходимо рассмотреть целевой рынок и провести его сегментирование.

Так как исследование ведется для дальнейшего создания пробиотика для сельскохозяйственных животных путем комбинирования солей лития и лактобактерий, то потенциальными компаниями могут быть биотехнологические компании. Было выделено три организации, занимающимися производством кормовых добавок для сельскохозяйственных животных: «Сиббиофарм», «Биопрогресс», «Витагарант». Сегментирование рынка произвели посредством построения карты сегментирования (Таблица 5). Критериями сегментирования были выбраны размер компаний и отрасль деятельности.

Таблица 5 – Карта сегментирования

		Отрасль		
		Биотехнологические компании широко профиля	Биотехнологические компании, специализирующиеся на добавках для животных	Научно-исследовательская
Размеры компании	Крупные			
	Средние			
	Мелкие			

 – «Витагарант»  – «Сиббиофарм»  – «Биопрогресс»

Исходя из полученной карты сегментирования можно сделать вывод о том, что на целевом рынке компаний участками с низкой конкуренцией являются крупные и средние компании в биотехнологической отрасли, специализирующиеся на добавках для животных и мелкие компании в биотехнологической отрасли широкого профиля. В рамках выполнения данного проекта был выбран участок низкой конкуренции в области средних биотехнологических компаний, специализирующиеся на добавках для животных.

4.1.2 Анализ конкурентных технических решений

Детальный анализ конкурирующих разработок, существующих на рынке, необходимо проводить систематически, поскольку рынки пребывают в постоянном движении [1].

Исследования показали, что соли лития не оказывают токсичного действия на лактобактерии. Следовательно, возможно создание комбинированного пробиотика для животноводства на основе лактобактерий

и солей лития. На сегодняшний день существует немалое количество пробиотиков для животноводства, а также ведутся активные исследования в области добавления солей лития в корма для животных для увеличения их продуктивности. Однако, комбинированного пробиотика не создано. В качестве конкурирующих решений выбраны 1) пробиотик «Муцинол»; и 2) пробиотик «Споротермин». Данный анализ проводился с помощью оценочной карты (Таблица 6). В ней приведены баллы экспертной оценки комбинирования лактобактерий с солями лития (B_{ϕ}) и продуктов-конкурентов – «Муцинол» ($B_{к1}$) и «Споротермин» ($B_{к2}$). K_{ϕ} , $K_{к1}$, $K_{к2}$ – конкурентоспособность соответствующих продуктов.

Таблица 6 – Оценочная карта для сравнения конкурентных технических разработок

Критерии оценки	Вес критерия	Баллы			Конкурентоспособность		
		B_{ϕ}	$B_{к1}$	$B_{к2}$	K_{ϕ}	$K_{к1}$	$K_{к2}$
1	2	3	4	5	6	7	8
Технические критерии оценки ресурсоэффективности							
1. Повышение продуктивности	0,3	3	4	5	0,9	0,75	0,7
2. Трудоемкость получения	0,2	5	3	2	0,3	0,5	0,4
3. Применяемые количества	0,1	5	3	3	0,5	0,6	0,6
Экономические критерии оценки эффективности							
4. Цена	0,2	5	3	4	0,5	0,6	0,4
5. Конкурентоспособность продукта	0,1	4	3	4	0,7	0,65	0,6
6. Финансирование научной разработки	0,1	4	4	4	0,9	0,6	0,4
Итого:	1				3,8	3,7	3,1

Критерии для сравнения и оценки ресурсоэффективности и ресурсосбережения, приведенные в таблице 2, подбираются, исходя из выбранных объектов сравнения с учетом их технических и экономических особенностей разработки, создания и эксплуатации.

Позиция разработки и конкурентов оценивается по каждому показателю экспертным путем по пятибалльной шкале, где 1 – наиболее слабая позиция, а 5 – наиболее сильная. Веса показателей, определяемые экспертным путем, в сумме должны составлять 1.

Анализ конкурентных технических решений определяется по формуле 1 [1].

$$K = \sum B_i \times \text{Б}_i \quad (1)$$

где K – конкурентоспособность научной разработки или конкурента;

B_i – вес показателя (в долях единицы);

Б_i – балл i -го показателя.

Следовательно, можно сделать вывод, что исследованное комбинирование является конкурентоспособной. Также по результатам оценочной карты можно сказать, что основным конкурентом разрабатываемого решения является пробиотик «Муцинол».

4.1.3 SWOT-анализ

SWOT – это комплексный анализ научно-исследовательского проекта. SWOT-анализ применяют для исследования внешней и внутренней среды проекта. Результаты первого этапа SWOT-анализа представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Первый этап SWOT-анализа

	<p>Сильные стороны исследовательского проекта:</p> <p>С1. Повышение продуктивности животных.</p> <p>С2. Комбинированный состав.</p> <p>С3. Низкая стоимость препарата.</p> <p>С4. Использование бактерий нормальной микрофлоры.</p> <p>С5. Отсутствие токсичности солей лития в отношении лактобактерий</p>	<p>Слабые стороны научно-исследовательского проекта:</p> <p>Сл1. Отсутствие достаточного количества материалов для проведения исследования.</p> <p>Сл2. Малое количество изученных видов бактерий.</p>
<p>Возможности:</p> <p>В1. Высокий спрос на подобные решения вследствие развития биотехнологий.</p> <p>В2. Высокая стоимость конкурентных решений.</p>		
<p>Угрозы:</p> <p>У1. Недостаток финансирования исследования.</p> <p>У2. Малая скорость проведения исследования.</p>		

Второй этап SWOT-анализа состоит в выявлении соответствия сильных и слабых сторон научно-исследовательского проекта внешним условиям окружающей среды [1]. Это соответствие или несоответствие должны помочь

выявить степень необходимости проведения стратегических изменений. В рамках данного этапа необходимо построить интерактивную матрицу проекта. Ее использование помогает разобраться с различными комбинациями взаимосвязей областей матрицы SWOT. Каждый фактор помечается либо знаком «+» (означает сильное соответствие сильных сторон возможностям), либо знаком «-» (что означает слабое соответствие); «0» –если есть сомнения в том, что поставить «+» или «-». Примеры интерактивных матриц представлены в 8, 9, 10, 11.

Таблица 8 – Интерактивная матрица проекта «Сильные стороны и возможности»

	Сильные стороны проекта					
		C1	C2	C3	C4	C5
Возможности	B1	+	+	+	+	+
	B2	+	+	+	-	-

Таблица 9 – Интерактивная матрица проекта «Слабые стороны и возможности»

	Слабые стороны проекта		
		Сл1	Сл2
Возможности	B1	+	+
	B2	-	-

Таблица 10 – Интерактивная матрица проекта «Сильные стороны и угрозы»

	Сильные стороны проекта
--	-------------------------

		C1	C2	C3	C4	C5
Угрозы	У1	+	+	+	-	-
	У2	-	-	-	+	+

Таблица 11 – Интерактивная матрица проекта «Слабые стороны и угрозы»

Слабые стороны проекта			
Угрозы		Сл1	Сл2
	У1	+	+
	У2	+	+

Таким образом, в рамках третьего этапа может быть составлена итоговая матрица SWOT-анализа, представленная в таблице 12.

Таблица 12 – Итоговая матрица SWOT-анализа

	<p>Сильные стороны исследовательского проекта:</p> <p>С1. Повышение продуктивности животных.</p> <p>С2. Комбинированный состав.</p> <p>С3. Низкая стоимость препарата.</p> <p>С4. Использование бактерий нормальной микрофлоры.</p> <p>С5. Отсутствие токсичности солей лития в отношении лактобактерий</p>	<p>Слабые стороны научно-исследовательского проекта:</p> <p>Сл1. Отсутствие достаточного количества материалов для проведения исследования.</p> <p>Сл2. Малое количество изученных видов бактерий.</p>
--	--	---

Возможности: В1. Высокий спрос на подобные решения вследствие развития биотехнологий. В2. Высокая стоимость конкурентных решений.	Предложенный препарат обладает рядом сильных сторон и может представлять интерес для биотехнологических компаний.	Возможен поиск поставщиков материалов, располагающихся в РФ.
Угрозы: У1. Недостаток финансирования исследования. У2. Малая скорость проведения исследования.	Сильные стороны позволяют снизить потребности в финансировании до минимальных.	Недостаток финансирования приводит к отсутствию достаточного количества материалов и оборудования для проведения полного исследования. Малая скорость работы не позволяет изучить большое количество видов бактерий.

В результате проведения SWOT-анализа выявлено соответствие сильных сторон предлагаемого решения возможностям. Сильные стороны также позволяют компенсировать угрозы среды. Для устранения слабых сторон проекта необходим поиск источника финансирования проекта, которым может стать коммерческая организация, так как в условиях развития биотехнологической отрасли (В1) их количество постоянно растет. Для увеличения скорости проведения исследования необходимо увеличить количество исполнителей и оптимизировать методики проведения исследования.

4.2 Определение возможных альтернатив проведения научных исследований

В предыдущем разделе были проведены методы, которые позволяют выявить и предложить возможные альтернативы проведения исследования и

доработки результатов. Однако, в большей степени все приведенные методы ориентированы на совершенствование результатов научного исследования, находящегося на стадии создания прототипа конечного продукта. Если разработка находится на перечисленных стадиях жизненного цикла нового продукта, можно предложить не менее трехосновных вариантов совершенствования разработки или основных направлений научного исследования. Воспользуемся морфологическим подходом, который основан на систематическом исследовании всех теоретически возможных вариантов, вытекающих из закономерностей строения (морфологии) объекта исследования.

В качестве морфологических характеристик объекта исследования можно выделить соли лития, метод исследования, виды сред для лактобактерий. Морфологическая матрица с рассмотрением альтернативных решений приведена в таблице 13.

Таблица 13 – Морфологическая матрица альтернативных решений

	1	2	3
А. Соли лития	Аскорбат	Сукцинат	Карбонат
Б. Метод исследования	По оптической плотности в жидкой питательной среде	По оптической плотности в жидкой питательной среде	Визуально в плотной питательной среде
В. Среда для лактобактерий	МРС	Среда Рогоза	Глюкозо-пептонная среда

Морфологическая матрица позволяет наглядно рассмотреть перспективы развития, возможность расширения производственных решений, введение модификаций и усовершенствование проекта. Наиболее перспективным является вариант исследования влияния аскорбата лития на лактобактерии по оптической плотности в жидкой питательной среде МРС,

так как аскорбат лития наиболее успешно применяется в качестве добавки в кормах для животных, метод исследования по оптической плотности более точен, а среда МРС содержит больше питательных веществ, позволяющих получить больше лактобактерий.

4.3 Планирование научно-исследовательских работ

4.3.1 Структура работ в рамках научного исследования

Для выполнения научно-исследовательской работы сформировали рабочую группу, в состав которой входят: бакалавр – Савенкова А.И. (Исп.1), научный руководитель – Чернова А.П. (Исп.2), консультант по разделу «Финансовый менеджмент» – Спицына Л.Ю. (Исп.3) и консультант по разделу «Социальная ответственность» – Гуляев М.В. (Исп.4). В рамках проведения научного исследования составили перечень этапов и работ, а также провели распределение исполнителей по всем видам работ (Таблица 14).

Таблица 14 – Перечень этапов, работ и распределение исполнителей

Основные этапы	№ раб	Содержание работ	Должность исполнителя
Разработка технического задания	1	Составление и утверждение технического задания	Научный руководитель, консультант по ФМ, консультант по СО
Выбор направления исследований	2	Подбор и изучение материалов по теме	Научный руководитель, бакалавр
	3	Литературный обзор	Бакалавр
	4	Выбор направления исследования	Научный руководитель, бакалавр

	5	Календарное планирование работ по теме	Научный руководитель, бакалавр
Теоретические и экспериментальные исследования	6	Проведение теоретических расчетов и обоснований	Научный руководитель, бакалавр
	7	Построение моделей и проведение экспериментов	Бакалавр
	8	Сопоставление результатов экспериментов с теоретическими исследованиями	Научный руководитель, бакалавр
Обобщение и оценка результатов	9	Оценка эффективности полученных результатов	Научный руководитель, бакалавр
	10	Определение целесообразности проведения ВКР	Научный руководитель, бакалавр
Разработка технической документации	11	Разработка главы по разделу «Финансовый менеджмент»	Бакалавр, консультант по ФМ
	12	Разработка главы по разделу «Социальная ответственность»	Бакалавр, консультант СО
Оформление комплекта документации по ВКР	13	Составление пояснительной записки	Бакалавр

4.3.2 Определение трудоёмкости выполнения работ

Трудоемкость выполнения научно-исследовательской работы оценивается экспертным путем в человеко-днях. Она носит вероятностный характер, так как зависит от множества трудно учитываемых факторов. Для определения ожидаемого значения трудоемкости $t_{ож\ i}$ используется формула [1]:

$$t_{ож\ i} = \frac{3 \cdot t_{min\ i} + 2 \cdot t_{max\ i}}{5}, \quad (2)$$

Где $t_{ожі}$ – ожидаемая трудоёмкость выполнения i -ой работы чел.-дн.;

$t_{min i}$ – минимально возможная трудоёмкость выполнения i -ой работы чел.-дн.;

$t_{max i}$ – максимально возможная трудоёмкость выполнения i -ой работы чел.-дн.

После определения ожидаемой трудоёмкости работ необходимо рассчитать продолжительность каждой из работ в рабочих днях T_p . Величина T_p учитывает параллельность выполнения этих работ несколькими исполнителями [1]:

$$T_{p i} = \frac{t_{ожі}}{Ч_i}, \quad (3)$$

Где $T_{p i}$ – продолжительность одной работы, раб.дн.;

$t_{ожі}$ – ожидаемая трудоемкость выполнения i -ой работы чел.-дн.;

$Ч_i$ – численность исполнителей, выполняющих одновременно одну и ту же работу на данном этапе, чел.

Произведём расчёт представленных ранее параметров для первого этапа работ (составление и утверждение технического задания):

$$t_{ожі} = \frac{3 \cdot t_{min i} + 2 \cdot t_{max i}}{5} = \frac{3 \cdot + 2 \cdot 4}{5} = 3,4 \text{ чел. – дн.}$$

$$T_{p i} = \frac{t_{ожі}}{Ч_i} = \frac{3,4}{1} = 3,4 \text{ раб. дн.}$$

4.3.3 Разработка графика проведения научного исследования

В рамках данной научно-исследовательской работы наиболее наглядным будет построение ленточного графика проведения научных работ в форме диаграммы Ганта. Она представляет собой горизонтальный

ленточный график, на котором работы по теме представляются протяженными во времени отрезками, характеризующимися датами начала и окончания выполнения данных работ [1].

Для удобства построения графика, длительность каждого из этапов работ из рабочих дней следует перевести в календарные дни (данный параметр был рассчитан в предыдущем пункте). Для этого необходимо воспользоваться следующей формулой [1]:

$$T_{ki} = T_{pi} \cdot k_{\text{кал}}, \quad (4)$$

Где T_{ki} – продолжительность выполнения i -й работы в календарных днях;

T_{pi} – продолжительность выполнения i -й работы в рабочих днях;

$k_{\text{кал}}$ – коэффициент календарности.

Коэффициент календарности определяется по формуле (5):

$$k_{\text{кал}} = \frac{T_{\text{кал}}}{T_{\text{кал}} - T_{\text{вых}} - T_{\text{пр}}}, \quad (5)$$

Где $T_{\text{кал}}$ – количество календарных дней в году;

$T_{\text{вых}}$ – количество выходных дней в году;

$T_{\text{пр}}$ – количество праздничных дней в году.

Произведём расчёт представленных ранее параметров для первого этапа работ (составление и утверждение технического задания):

$$k_{\text{кал}} = \frac{T_{\text{кал}}}{T_{\text{кал}} - T_{\text{вых}} - T_{\text{пр}}} = \frac{365}{365 - 118} = 1,48$$

$$T_{ki} = T_{pi} \cdot k_{\text{кал}} = 3,4 \cdot 1,48 = 5 \text{ дней}$$

Таблица 15 – Календарный план-график проведения НИР

№	Вид работ	Исполнители	Т _{кi} , кал. дн.	Продолжительность выполнения работ												
				Январь	Февраль			Март			Апрель			Май		
				3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	Составление и утверждение технического задания	Научный руководитель, консультант по ФМ, консультант по СО	5	<div><div></div><div></div><div></div></div>												
2	Подбор и изучение материалов по теме	Научный руководитель, бакалавр	5		<div><div></div><div></div></div>											
3	Литературный обзор	Бакалавр	10		<div><div></div></div>											
4	Выбор направления исследования	Научный руководитель, бакалавр	3		<div><div></div></div>											
5	Календарное планирование работ по теме	Научный руководитель, бакалавр	2		<div><div></div></div>											
6	Проведение теоретических расчетов и обоснований	Научный руководитель, бакалавр	5		<div><div></div><div></div></div>											
7	Построение моделей и проведение экспериментов	Бакалавр	70													
8	Сопоставление результатов экспериментов с теоретическими исследованиями	Научный руководитель, бакалавр	5										<div><div></div><div></div></div>			

4.4 Бюджет научно-технического исследования

4.4.1 Расчёт материальных затрат НТИ

Бюджет затрат на выполнение составляется с целью проведения данной работы. Затраты на рассчитываются по статьям калькуляции, которые включают две группы затрат прямые затраты и накладные затраты. Расчет стоимости материальных затрат производился по действующим прейскурантам и ценам с учетом НДС. В стоимость материальных затрат включили транспортно-заготовительные расходы (3–5 % от цены). Результаты расчета затрат на сырье, материалы и покупные изделия в процессе проведения ВКР представлены в таблице 12.

Таблица 16 – Затраты на сырье

Наименование	Ед. измерения	Количество			Цена за ед., руб			Затраты на материалы, руб.		
		Ис п.1	Ис п.2	Ис п.3	Исп. 1	Исп. 2	Исп. 3	Исп. 1	Исп. 2	Исп. 3
Дрожжевой экстракт	г	16	40	-	7,2	7,2	-	24	300	-
Пептон сухой ферментативный	г	40	40	20	8,6	8,6	8,6	344	344	172
Агар микробиологический	г	-	-	80	-	-	9,3	-	-	744
Глюкоза	г	80	80	40	0,3	0,3	0,3	24	24	12
Лимонная кислота	г	4	80	-	0,27	0,27	-	2	12	-
Хлорид аммония	г	8	40	-	0,48	0,48	-	5	20	-
Ацетат натрия	г	20	-	-	1,5	-	-	30	-	-
Твин 80	г	4	-	-	1,7	-	-	7	-	-
Гидроортофосфат калия	г	8	-	-	1,4	-	-	12	-	-

Сульфат магния семиводный	г	0,8	2	-	0,33	0,33	-	0,3	0,7	-
Сульфат марганца четырёхводный	г	0,2	5	-	1,1	1,1	-	0,22	5,5	-
Аскорбат лития	г	10	-	-	48	-	-	480	-	-
Сукцинат лития	г	-	10	-	-	50	-	-	500	-
Карбонат лития	г	-	-	10	1,2	1,2	1,2	-	-	12
Лактобактерин сухой («Микроген»)	упак	1	1	1	150	150	150	150	150	150
Вата хирург нестерильная	кг	1	1	1	250	250	250	250	250	250
Пергамент	упак	1	1	1	750	750	750	750	750	750
Спирт этиловый, 96%	л	1	1	1	2100	2100	2100	2100	2100	2100
Перекись водорода, 37 %	кг	0,5	0,5	0,5	170	170	170	85	85	85
Фильтровальная бумага	упак	2	2	2	70	70	70	140	140	140
Перчатки латексные	упак	1	1	1	900	900	900	900	900	900
Итого								5996 ,52	5581 ,20	5315 ,00

4.4.2 Расчёт затрат на специальное оборудование для научных работ

Расчет сводится к определению амортизационных отчислений, так как оборудование было приобретено до начала выполнения данной работы и эксплуатировалось ранее, поэтому при расчете затрат на оборудовании учитываем только рабочие дни по данной теме. Амортизация оборудования рассчитывается по формуле (12) [1]:

$$A = \frac{C_n \cdot H_a \cdot n}{100 \cdot k}, \quad (6)$$

Где C_n – первоначальная стоимость оборудования;

H_a – норма амортизации, %;

n – число проработанных месяцев;

k – количество месяцев в году.

Таблица 17 – Затраты на приобретение спец оборудования для научных работ

№	Наименование оборудования	Кол-во единиц оборудования	Цена единицы оборудования, руб.	Общая стоимость оборудования, руб.	Амортизация, руб.
1	Суховоздушный шкаф-стерилизатор Binder	1	350 000	350 000	8 750
2	Ламинарный шкаф SC2-4A1 Streamline Esco	1	563 000	563 000	16 890
3	Цифровой автоклав WiseClave WAC-60	1	473 000	473 000	11 825
4	Инкубатор WiseCube WIS-20 горизонтальный с орбитальным шейкером	1	340 000	340 000	8 500
5	Дистиллятор WD-2004F (3,5 л/ч)	1	45 000	45 000	1 125
6	Лабораторные аналитические весы ACCULAB ALC-210d4	1	77 220	77 220	1 930,5
7	Микроскоп Carl Zeiss Primo Star	1	111 000	111 000	2 775

8	Дозатор Ленпипет переменного объёма (100–1000) мкл	1	8 333	8 333	208,3
9	Спектрофотометр Agilent Cary 60	1	1 127 000	1 127 000	28 175
Итого				3 094 553	80 178,8

4.4.3 Расчёт основной заработной платы исполнителей темы

Статья включает в себя основную заработную плату $Z_{\text{осн}}$ и дополнительную заработную плату $Z_{\text{доп}}$:

$$Z_{\text{осн}} = Z_{\text{дн}} \cdot T_{\text{р}}, \quad (7)$$

Где $Z_{\text{осн}}$ – основная заработная плата одного работника;

$Z_{\text{дн}}$ – среднедневная заработная плата работника, руб.;

$T_{\text{р}}$ – продолжительность работ, выполняемых научно-техническим работником, раб.дн.

Среднедневная заработная плата рассчитывается по формуле [41]:

$$Z_{\text{дн}} = \frac{Z_{\text{м}} \cdot M}{F_{\text{д}}}, \quad (8)$$

Где $Z_{\text{м}}$ – месячный должностной оклад работника, руб.;

M – количество месяцев работы без отпуска в течение года:

при отпуске в 24 раб. дня $M = 11,2$ месяца, 5-дневная неделя;

$F_{\text{д}}$ – действительный годовой фонд рабочего времени научно-технического персонала, раб.дн. (Таблица 14)

Таблица 18 – Баланс рабочего времени

Показатели рабочего времени	Руководитель	Бакалавр
Календарное число дней	365	365
Количество нерабочих дней -выходные дни -праздничные дни	118	118
Потери рабочего времени -отпуск -невыходы по болезни	24	-
Действительный годовой фонд рабочего времени	223	247

Месячный должностной оклад работника [41]:

$$З_{\text{м}} = З_{\text{ТС}} \cdot (1 + k_{\text{ПР}} + k_{\text{Д}}) \cdot k_{\text{Р}}, \quad (9)$$

Где $З_{\text{ТС}}$ – заработная плата по тарифной ставке, руб.;

$k_{\text{ПР}}$ – премиальный коэффициент, равный 0,3 (30% от $З_{\text{ТС}}$);

$k_{\text{Д}}$ – коэффициент доплат и надбавок составляет примерно 0,2-0,5;

$k_{\text{Р}}$ – районный коэффициент, который для города Томск составляет 1,3.

Расчёт основной заработной платы представлен в таблице 15.

Таблица 19 – Расчёт основной заработной платы

Исполнитель	$З_{\text{ТС}}$, руб.	$k_{\text{ПР}}$	$k_{\text{Д}}$	$k_{\text{Р}}$	$З_{\text{м}}$, руб.	$З_{\text{дн}}$, руб.	$T_{\text{Р}}$, раб.дн.	$З_{\text{осн}}$, руб.
-------------	---------------------------	-----------------	----------------	----------------	--------------------------	---------------------------	-----------------------------	----------------------------

Руководитель	35 194	-	0,3	1,3	59 478	3 042	9	27 378
Бакалавр	4 875	-	-	1,3	6 338	292	84	24 528
Консультант по ФМ	35 194	-	0,3	1,3	59 478	3 042	2	6 084
Консультант по СО	35 194	-	0,3	1,3	59 478	3 042	2	6 084
Итого								64 074

Расчёт дополнительной заработной платы рассчитывается по формуле:

$$З_{\text{доп}} = k_{\text{доп}} \cdot З_{\text{осн}}, \quad (10)$$

Где $k_{\text{доп}}$ – коэффициент дополнительной заработной платы, равный 0,13.

Полная заработная плата исполнителей темы представлена в таблице 16.

Таблица 20 – Расчёт полной заработной платы исполнителей

Исполнители	$З_{\text{осн}}$, руб.	$З_{\text{доп}}$, руб.	$З_{\text{зп}}$, руб.
Руководитель	27 378	3 559	30 937
Бакалавр	24 528	3 189	27 717
Консультант по ФМ	6 084	791	6 875
Консультант по СО	6 084	791	6 875
Итого	64 074	8 330	72 404

4.4.4 Отчисления во внебюджетные фонды (страховые отчисления)

Отчисления на социальные нужды составляет 30 % ($k_{\text{внеб}} = 0,3$) от суммы заработной платы всех сотрудников, из которых 22 % составляют отчисления в пенсионный фонд, 2,9 % –на социальное страхование, 5,1 % –на

медицинское страхование. Рассчитываем затраты на отчисление на социальные нужды по формуле:

$$З_{\text{о.с.н.}} = 0,3 \cdot (З_{\text{осн.}} + З_{\text{доп.}}) = 0,3 \cdot З_{\text{зп.}}, \quad (11)$$

Где $З_{\text{о.с.н.}}$ – затраты на отчисления на социальные нужды, руб.

$$З_{\text{о.с.н.}} = 0,3 \cdot 72404 = 21721,2 \text{ руб.}$$

4.4.5 Накладные расходы

Накладные расходы учитывают прочие затраты организации, не попавшие в предыдущие статьи расходов: печать графических материалов, оплата услуг связи, электроэнергии, транспортные расходы и т.д. Их величина определяется по формуле [41]:

$$З_{\text{накл.}} = k_{\text{нр}} \cdot (\text{сумма статей } 1 \div 5), \quad (12)$$

Где $k_{\text{нр}}$ – коэффициент, учитывающий накладные расходы, принимаем в размере 16 %.

$$З_{\text{накл}} = 0,16 \cdot (З_{\text{мат}} + A_{\text{м}} + З_{\text{осн}} + З_{\text{доп}} + З_{\text{внеб}}),$$

$$З_{\text{накл испол.1}} = 0,16 \cdot (5996,52 + 80178,8 + 64074 + 21721,2) = 27\,515,28 \text{ руб.}$$

4.4.6 Формирование бюджета затрат научно-исследовательского проекта

Рассчитанная величина затрат исследовательской работы является основой для формирования бюджета затрат проекта, который при формировании договора с заказчиком защищается научной организацией в качестве нижнего предела затрат на разработку научно-технической

продукции. Определение бюджета затрат на исследовательский проект приведен в таблице 21.

Таблица 21 – Расчет бюджета затрат проводимого исследования

Наименование статьи	Сумма, руб.			Примечание
	Исп.1	Исп.2	Исп.3	
1.Материальные затраты НТИ	5996,52	5581,2	5315	Пункт 4.4.1
2.Затраты на специальное оборудование	80 178,8	80 178,8	80 178,8	Пункт 4.4.2
3.Затраты по основной заработной плате	64 074	64 074	64 074	Пункт 4.4.3
4.Затраты по дополнительной заработной плате	8 330	8 330	8 330	Пункт 4.4.3
5.Отчисления во внебюджетные фонды	21 721,2	21 721,2	21 721,2	Пункт 4.4.4
6.Накладные расходы	27 515,28	27 515,28	27 515,28	Пункт 4.4.5
7.Бюджет затрат НТИ	207 815,8	207 400,48	207 134,28	Сумма ст. 1-5

4.5. Определение ресурсной (ресурсосберегающей), финансовой, бюджетной, социальной и экономической эффективности исследования

Определение эффективности происходит на основе расчета интегрального показателя эффективности исследования. Его нахождение связано с определением двух средневзвешенных величин: финансовой эффективности и ресурсоэффективности. Интегральный финансовый показатель разработки определяется как:

$$I_{\text{финр}}^{\text{исп.}i} = \frac{\Phi_{pi}}{\Phi_{\text{max}}}, \quad (13)$$

Где $I_{\text{финр}}^{\text{исп.}i}$ – интегральный финансовый показатель разработки;

Φ_{pi} – стоимость i -го варианта исполнения;

Φ_{max} – максимальная стоимость исполнения научно-исследовательского проекта.

Интегральный показатель ресурсоэффективности вариантов исполнения объекта исследования рассчитывают по формуле [41]:

$$I_{pi} = \sum a_i \cdot b_i, \quad (14)$$

Где I_{pi} – интегральный показатель ресурсоэффективности для i -го варианта исполнения разработки;

a_i – весовой коэффициент i -го варианта исполнения разработки;

b_i – бальная оценка i -го варианта исполнения разработки, устанавливается экспертным путем по выбранной шкале оценивания

Расчет интегрального показателя ресурсоэффективности представлен в таблице 22.

Таблица 22 – Сравнительная оценка характеристик вариантов исполнения проекта

Объект исследования Критерии	Весовой коэффициент параметра	Исп.1	Исп.2	Исп.3
1. Повышение продуктивности	0,25	5	3	4
2. Простота эксплуатации	0,20	5	4	3
3. Материалоёмкость	0,25	5	5	4
4. Энергоёмкость	0,15	3	4	5
5. Экспрессность	0,15	4	4	4
ИТОГО	1	4,55	4	3,95

$$I_{p \text{ исп}1} = 5 \cdot 0,25 + 5 \cdot 0,2 + 5 \cdot 0,25 + 3 \cdot 0,15 + 4 \cdot 0,15 = 4,55$$

$$I_{p \text{ исп}2} = 3 \cdot 0,25 + 4 \cdot 0,2 + 5 \cdot 0,25 + 4 \cdot 0,15 + 4 \cdot 0,15 = 4$$

$$I_{p \text{ исп}3} = 4 \cdot 0,25 + 3 \cdot 0,2 + 4 \cdot 0,25 + 5 \cdot 0,15 + 4 \cdot 0,15 = 3,95$$

Интегральный показатель эффективности вариантов исполнения разработки ($I_{\text{исп}i}$) определяется исходя из интегрального показателя ресурсоэффективности и интегрального финансового показателя [41]:

$$I_{\text{исп}i} = \frac{I_{p \text{ исп}i}}{I_{p \text{ исп}i}^{\text{финр}}} \quad (15)$$

Сравнительная эффективность проекта определяется путем сравнения различных интегральных показателей эффективности вариантов исполнения разработки. Данный показатель позволяет выделить наиболее оптимальный вариант из предложенных вариантов. Сравнительная эффективность проекта ($\mathcal{E}_{\text{ср}}$) [41]:

$$\mathcal{E}_{\text{ср}} = \frac{I_{\text{исп}1}}{I_{\text{исп}2}} \quad (16)$$

Результаты расчета эффективности разработки представлены в таблице 23.

Таблица 23 – Сравнительная эффективность разработки

№	Показатели	Исполнение 1	Исполнение 2	Исполнение 3
1	Интегральный финансовый показатель разработки	1	0,998	0,987
2	Интегральный показатель ресурсоэффективности	4,55	4	3,95
3	Интегральный показатель эффективности	4,55	4	4

4	Сравнительная эффективность вариантов исполнения	1	0,88	0,87
---	--	---	------	------

Вывод. В результате проведенного анализа показано, что при применении в качестве добавки аскорбата лития (исполнение 1) достигается лучший эффект. Данный вариант характеризуется высокими значениями показателей финансовой эффективности ($I_{\text{фин}}=0,986$), ресурсоэффективности ($I_p=4,8$) и, следовательно, интегрального показателя эффективности, равного 4,87.

5. Социальная ответственность

Целью данной выпускной квалификационной работы является исследование влияния солей лития на жизнеспособность лактобактерий. Данная тема выбрана в связи с несколькими аспектами. Во-первых, лактобактерии широко применяются в медицине, ветеринарии, пищевых продуктах для нормализации микрофлоры ЖКТ, повышения иммунитета, поскольку являются представителями индигенной микрофлоры человека и животных. Во-вторых, соли лития обладают антиоксидантными свойствами, а также используются в медицине для лечения психических расстройств и сердечно-сосудистых заболеваний, в ветеринарии и животноводстве – для повышения иммунитета, для борьбы с технологическими стрессами, для повышения продуктивности животных. В-третьих, при обзоре литературы было выявлено, что исследование солей лития на жизнеспособность лактобактерий никто не проводил. Поэтому существует необходимость в данном исследовании.

Работа проводилась в учебно-исследовательской микробиологической лаборатории Отделения химической инженерии НИ ТПУ, располагающейся в 222 аудитории второго корпуса ТПУ.

При работе осуществляется контакт с химическими реактивами, микроорганизмами и продуктами их жизнедеятельности, а также работник подвержен воздействию опасных и вредных факторов, связанных с работой оборудования и обработкой помещения.

В данном разделе рассматриваются вопросы охраны труда, связанные с работой в микробиологической лаборатории, мероприятия по предотвращению воздействия на здоровье работников опасных и вредных факторов, а также возможное влияние на окружающую среду и потенциальные ЧС.

5.1 Правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности

5.1.1 Специальные правовые нормы трудового законодательства

Базовым документом для работников микробиологической лаборатории являются положения трудового законодательства, которые установлены Трудовом Кодексом РФ. Также существуют специальные требования для работы с химическими и биологическими объектами.

Работы велись в микробиологической лаборатории, соответственно, соблюдались меры биологической безопасности [28], чтобы обезопасить себя от заболеваний и интоксикации, вызванных микроорганизмами, а также продуктами их жизнедеятельности.

Помимо биологической опасности, работа также велась с вредными веществами, поэтому соблюдение мер по работе ними выполнялась в соответствии с [29] для предотвращения повышения их концентрации в воздухе рабочей зоны выше предельно допустимого уровня.

5.1.2 Организационные мероприятия при компоновке рабочей зоны

Значительная часть работ в микробиологической лаборатории осуществляется в положении сидя за ламинарным шкафом, в котором работают с микроорганизмами. Следовательно, рабочую зону необходимо обустроить в соответствии с требованиями, указанными в [30]. Рабочее место должно быть оборудовано таким образом, чтобы взаимное расположение всех его элементов соответствовало антропометрическим, физиологическим и психологическим требованиям. Конструкция рабочего

места должна обеспечивать выполнение трудовых операций в пределах зоны досягаемости моторного поля. Выполняемые работы по классификации относятся к легким, поэтому требуют обеспечивать высоту рабочей поверхности на уровне 725 мм и высоту сидения 420 мм.

Внутреннее пространство следует оборудовать в соответствии с [31]. Необходимо правильно размещать инструменты, с помощью которых производятся все манипуляции: петли, дозаторы, емкости с жидкостями и т.п. Все элементы должны быть расположены в пределах моторной доступности и предотвращать перекрещивания рук в процессе работы.

5.2 Производственная безопасность

По характеру происхождения вредных и опасных факторов, воздействующих на работника лаборатории при проведении данного исследования, в соответствии с [32], можно выделить:

- факторы, порождаемые физическими свойствами и характеристиками состояния материальных объектов производственной среды;

- факторы, порождаемые химическими и физико-химическими свойствами используемых или находящихся в рабочей зоне веществ и материалов;

- факторы, порождаемые биологическими свойствами микроорганизмов, находящихся в биообъектах и (или) загрязняющих материальные объекты производственной среды.

Перечень вредных и опасных факторов, возникающий при данных исследованиях в лаборатории, представлен в таблице 24.

Таблица 24 – Возможные вредные и опасные факторы, возникающие в лаборатории

Факторы (ГОСТ 12.0.003-2015)	Исследование влияния солей лития на жизнеспособность лактобактерий	Нормативные документы
Отклонение показателей микроклимата	+	СанПиН 1.2.3685-21 Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания
Наличие оборудования с горячими поверхностями	+	ГОСТ Р 51337-99 Безопасность машин. Эргономические данные для установления предельных величин горячих поверхностей.
Повышенное значение напряжения в электрической цепи	+	ГОСТ 12.1.038-82 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Предельно допустимые значения напряжений прикосновения и токов.
Повышение уровня шума	+	ГОСТ 12.1.003 –83 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Шум. Общие требования безопасности
Легковоспламеняющиеся жидкости	+	ГОСТ 12.1.044-89 Пожаровзрывоопасность веществ и материалов.
Работа с вредными веществами	+	ГН 2.2.5.3532–18. Предельно допустимые концентрации (ПДК)

		вредных веществ в воздухе рабочей зоны
Микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности	+	ГОСТ 12.1.008-76 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Биологическая безопасность. Общие требования.

Отклонение показателей микроклимата

Вредным фактором в лаборатории может являться несоответствие окружающей среды оптимальным микроклиматическим условиям, которые необходимы для комфортного выполнения работы. Микроклимат помещения определяют по следующим показателям: температура воздуха и поверхностей, относительная влажность и скорость воздуха, интенсивность теплового излучения. Работы, выполняемые в микробиологической лаборатории, в соответствии с [33], относятся к категории Па.

Для микробиологической лаборатории предусмотрены санитарные нормы, представленные в таблице 25.

Таблица 25 – Оптимальные показатели микроклимата в лаборатории

Период года	Температура воздуха, °С	Температура поверхностей, °С	Относительная влажность воздуха, %	Скорость движения воздуха, м/с
Холодный	19-21	18-22	60-40	0,2
Теплый	20-22	19-23	60-40	0,2

Несоответствие микроклиматических условий в лаборатории нормам не нанесет вреда здоровью лаборанта, но может привести к ощущению теплового дискомфорта, ухудшению самочувствия и, как следствие, понижению работоспособности.

Для поддержания оптимальных микроклиматических условий лаборатория оснащена системами отопления и вентиляции.

Наличие оборудования с горячими поверхностями

Поскольку в лаборатории используется оборудование с нагретыми поверхностями, то существует вероятность теплового ожога. Во избежание травмирования предусмотрена защита оборудования специальными корпусами. При работе с оборудованием с повышенной температурой поверхности исключается их непосредственный контакт с кожными покровами, используются специальные ухваты и защитные перчатки из жароустойчивого материала.

Повышенное значение напряжения в электрической цепи

Лаборатория характеризуется высоким риском поражением электрического тока, поскольку присутствуют химически активные и органические среды, способные разрушить изоляцию и токоведущие части электрооборудования, а также повышенной влажностью при работе автоклава.

Это чревато коротким замыканием и возгоранием. Поэтому все химически активные вещества хранятся только в герметично закрывающейся посуде (при необходимости толстостенной). Оборудование работает от сети с напряжением 220 В, автоклав – от сети с напряжением 380 В.

Помимо этого, электробезопасность работников лаборатории должна обеспечиваться рядом мероприятий:

- соблюдением соответствующих расстояний до токоведущих частей;

- ограждением токоведущих частей;
- заземлением оборудования;
- применением предупреждающих надписей и плакатов;
- снятием напряжения с отдельных приборов по окончании рабочего дня необходимо, а также отключением всех щитков на лабораторных столах и общего рубильника за пределами лаборатории.

Повышение уровня шума

В микробиологической лаборатории находится оборудование, являющееся источником шума, к нему относятся: автоклав, ламинарный шкаф и сушилка для посуды. Шум оказывает вредное воздействие на организм человека. Если кратковременный шум может только раздражить, то при длительном воздействии происходит снижение остроты слуха, повышение кровяного давления, снижение внимания и, следовательно, снижение работоспособности. Предельное значение уровня шума установлено в [34]. Для работников лаборатории, выполняющих умственную работу с часто получаемыми указаниями и акустическими сигналами, рекомендуемый уровень шума – 60 дБ. Контроль осуществляется шумером [35] и проводится не реже двух раз в год.

Легковоспламеняющиеся жидкости

Пожаро-и взрывоопасность в лаборатории обусловлена наличием легковоспламеняющихся жидкостей. По классификации, приведенной в [36], микробиологическая лаборатория относится к пожаровзрывоопасным помещениям группы В1. Общие меры по обеспечению пожаровзрывобезопасности и устранению возможных источников пожаров и взрывов следующие:

-запрещается держать ЛВЖ и горючие вещества вблизи открытого огня, в теплом месте или вблизи нагревательных приборов;

-запрещается нагревать ЛВЖ и горючие вещества на открытом огне, на сетке, вблизи огня или открытых сосудах.

Работа с вредными веществами

К факторам, порождаемым химическими и физико-химическими свойствами используемых или находящихся в рабочей зоне веществ и материалов, относится контакт с веществами: этиловым спиртом, пероксидом водорода, серной кислотой, хлоридом бария (Таблица 26). Предельно допустимые концентрации (ПДК) определяются по [33], классы опасности – по [37].

Таблица 26 – Перечень опасных и вредных веществ, используемых в лаборатории

Вещество	Величина ПДКр.з., мг/м ³	Характеристика	Класс опасности	Особенности воздействия на организм
Перекись водорода (ГОСТ 10929-76)	0,3	Негорючая, пожаровзрывоопасная жидкость, является сильным окислителем, способна самопроизвольно на воду и кислород	2	Растворы перекиси водорода могут вызывать ожоги кожи и глаз, пары перекиси водорода -раздражение слизистых оболочек.
Этанол (ГОСТ 17299-78)	100	Легковоспламеняющаяся бесцветная жидкость с характерным запахом. Область воспламенения 3,6-19% (по объему)	4	Категория группа взрывоопасной смеси этилового спирта с воздухом - ПА-Т2. При пожаре следует использовать средства индивидуальной

				защиты органов дыхания фильтрующие противогазы марки Л или БКФ.
--	--	--	--	--

Лаборатория, снабжена приточно-вытяжной вентиляцией и вытяжным шкафом для защиты органов дыхания и слизистой оболочки глаз. Для предотвращения попадания вредных веществ внутрь и на кожу, необходимо использовать средства индивидуальной защиты: перчатки и халаты.

Микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности

К факторам, порождаемым биологическими свойствами микроорганизмов, находящихся в биообъектах и (или) загрязняющих материальные объекты производственной среды, относятся микроорганизмы *L.plantarum*, *L.fermentum*. Несмотря на то, что бактерии являются непатогенными, в ходе выполнения работы в микробиологической лаборатории каждый сотрудник должен строго соблюдать следующие требования безопасности:

-работники должны присутствовать в лаборатории в спецодежде, которую необходимо надевать при входе и снимать при выходе из помещения;

-при работе с биологическими агентами необходимо надевать перчатки;

-перенос биологического материала и использованной посуды для стерилизации необходимо осуществлять в закрывающихся емкостях, исключающих инфицирование во время транспортировки;

-во всех помещениях, где проводится работа с заразным материалом, не реже одного раза в 2 недели должна проводиться влажная уборка с дезинфицирующим средством стен, пола, боксов. Мебель и оборудование обрабатывают 2 -3%-ным раствором соды. Рабочее место, где

непосредственно проводится работа с культурами микроорганизмов, требует тщательной обработки. Рабочее место (ламинарный бокс) следует дезинфицировать не только до начала работы, но и после ее окончания. Для протирания поверхности стола использовать 70%-ный изопропиловый или этиловый спирт.-воздух во всех рабочих помещениях обеззараживается ежедневно при помощи бактерицидных ламп в течение 30-40 минут;

-обеззараживание рабочего места в ламинарном боксе также производится от 30-60 минут. Стерилизующая способность ламинарных боксов должна постоянно (не реже 6 месяцев) проверяться при помощи бактериологических питательных сред и фиксироваться также в журнале. - перед посевом следует разборчиво сделать надпись на пробирке (колбе или чашке Петри): название культуры и дату посева. Надпись делают маркером на стекле или на наклеенной этикетке.

5.3 Экологическая безопасность

Работа, проводимая в лаборатории, может оказывать воздействие на атмосферу, гидросферу и литосферу.

1) Влияние на атмосферу определяется использованием вредных вещества. Основным путем попадания в атмосферу является вентиляционная система. Для обеспечения необходимой защиты воздушной сферы все работы должны проводиться в вытяжном шкафу, оснащенный фильтром, при включенной тяге. Также необходимо обеспечить герметичность тары, в которой находятся вредные вещества.

2) Вредное воздействие на гидросферу может оказывать химическое и биологическое загрязнение водотоков в результате удаления биологических, неорганических и органических отходов в канализационную сеть населенных

пунктов. Данное воздействие определяется в соответствии с [38] и [39]. Если сточные воды содержат вредные вещества в концентрациях, превышающих установленные нормы, то их следует подвергать предварительной очистке. Для предотвращения негативных воздействий проводится организации раздельного сбора и хранения биологических, неорганических и органических отходов, обезвреживание кислых и щелочных стоков, регенерация растворителей. Жидкий биоматериал поступает в дезинфицирующие растворы, где подвергается обезвреживанию.

3) В микробиологической лаборатории образуются твердые отходы в виде бытового мусора, выбрасываемого в урну, и твердый биоматериал класса Б (по классификации [40]). Твердый биоматериал и контактирующие с ним предметы должны быть удалены в мягкую упаковку (одноразовые пакеты, маркированные желтым цветом с надписью «медицинские отходы», закрепленные в урнах). После заполнения пакета примерно на 3/4 из него удаляется воздух и сотрудник, ответственный за сбор отходов, осуществляет его герметизацию. Транспортирование всех видов отходов класса Б вне пределов медицинского подразделения осуществляется только в одноразовой упаковке после ее герметизации. Сбор и утилизацию отходов производят специальные службы.

5.4 Безопасность в чрезвычайных ситуациях

Чрезвычайные ситуации могут возникнуть как в результате несоблюдения правил безопасности и нахождения в лаборатории работниками, так и как следствия внешних антропогенных и неантропогенных влияний. В данном вопросе необходимо ориентироваться на [41].

Ошибочные действия сотрудников микробиологической лаборатории могут привести к антропогенным чрезвычайным ситуациям. Самыми распространенными антропогенными ЧС являются пожар и взрыв.

Пожар может возникнуть в результате нерегламентированного хранения и транспортирования взрывчатых веществ, легковоспламеняющихся жидкостей, переохлажденных и нагретых жидкостей. В микробиологической лаборатории использование легковоспламеняющихся жидкостей происходит в малых количествах, поэтому возможный пожар может быть охарактеризован как локальный. Для его ликвидации необходимо воспользоваться огнетушителем, песком или асбестовым одеялом и сообщить руководителю.

Другим потенциальным антропогенным ЧС в микробиологической лаборатории является взрыв. Он может возникнуть в результате разгерметизации систем повышенного давления – автоклава. Разрушение или разгерметизация систем повышенного давления в зависимости от физико-химических свойств рабочей среды может привести к появлению одного или комплекса поражающих факторов:

- ударная волна (последствия -травматизм, разрушение оборудования и несущих конструкций и т.д.);

- возгорание зданий, материалов и т.п. (последствия -термические ожоги, потеря прочности конструкций и т.д.);

- химическое загрязнение окружающей среды (последствия -удушье, отравление, химические ожоги и т.д.).

Микроорганизмы, с которыми проводится работа в лаборатории, являются непатогенными, поэтому при проведении исследования нет риска массового биологического заражения.

Неантропогенные ЧС обусловлены географическим расположением города Томска. Возможными опасными явлениями, приводящими к

нарушению нормальной деятельности, гибели людей и разрушению материальных ценностей могут быть пожары, взрывы, разрушения зданий в результате разрядов атмосферного электричества, ураганов. Здание защищается от прямых ударов молнии молнеприемниками, принимающими разряд на себя, заземлителями, служащими для отвода тока в землю и токопроводами, соединяющими молнеприемники и заземлители. В случае стихийного бедствия (урагана, землетрясения) необходимо отключить воду, электричество и покинуть помещение согласно плану эвакуации.

Для исключения возможности несчастных случаев должны проводиться обучение и проверка знаний работников требований безопасности труда.

Для предотвращения аварийных ситуаций в микробиологической лаборатории выполнялись следующие требования:

1) вход в биотехнологический блок посторонних лиц должен быть ограничен. Все сотрудники производят запись в журнале -начало и конец своей работы. При необходимости нахождения посторонних, они должны сопровождаться сотрудниками блока, их присутствие обязательно фиксироваться записью в журнале;

2) запрещается использовать материалы и средства личной гигиены, раздражающие кожу;

3) запрещается пипетировать ртом, переливать жидкий материал через край сосуда (пробирки, колбы с посевами);

4) запрещается употреблять пищу, курить;

5) запрещается сливать жидкие отходы в канализацию без предварительного обеззараживания;

6) запрещается оставлять после окончания работы на рабочих местах нефиксированные мазки или посуду с микроорганизмами;

7) оставлять без надзора рабочее место во время выполнения любого вида работ с микроорганизмами.

Заключение

В данном разделе рассмотрены правовые и организационные вопросы обеспечения безопасности работы при выполнении исследования, выявлены вредные и опасные факторы физической, химической и биологической природы, а также разработаны мероприятия по снижению или ликвидации действия данных факторов на работников лаборатории. Описано возможное влияние различных факторов на окружающую среду: атмосферу, гидросферу и литосферу, рассмотрены способы минимизации их воздействия. Также рассмотрены возможные чрезвычайные ситуации как антропогенной, так и неантропогенной природы, профилактические мероприятия для их предотвращения и ликвидации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе учебно-исследовательской работы был выделен штамм культуры *Lactobacillus plantarum* 8P-A3 из препарата «Лактобактерин» компании ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России, который был использован в дальнейших исследованиях.

В результате проведенных исследований были получены результаты, которые позволяют сделать выводы о влиянии органических солей лития на жизнеспособность лактобактерий:

1. Выявлено, что органические соли лития, а именно: аскорбат лития в диапазоне 12,27-27 ммоль/л; сукцинат лития – 10-21,27 ммоль/л; карбонат лития – 12,27-21,27 ммоль/л не обладают токсичностью в отношении лактобактерий;

2. Установлено, что кривые роста лактобактерий в присутствии аскорбата и сукцината лития не отличаются от кривой роста в отсутствии солей лития;

3. Обнаружено, что присутствие карбоната лития уменьшает время выхода на экспоненциальную и стационарную фазу роста лактобактерий;

4. Показано, что присутствие органических солей лития не увеличивает выход молочной кислоты, продуцируемой лактобактериями.

Данные исследования можно использовать для создания пробиотика для животноводства с комбинированием органических солей лития и лактобактерий, а также в областях биотехнологии и медицины.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СТУДЕНТА

1 Савенкова А. И. Исследование влияния солей лития на жизнеспособность бактерий рода *Lactobacillus* / А. И. Савенкова, А. П. Чернова ; науч. рук. А. П. Чернова // Химия и химическая технология в XXI веке : материалы XXII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков Л. П. Кулёва и Н. М. Кижнера, посвященной 125-летию со дня основания Томского политехнического университета, Томск, 17-20 мая 2021 г. : в 2 т. — Томск : Изд-во ТПУ, 2021. — Т. 1. — [С. 371-372].

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Соколенко Г. Г., Лазарев Б. П., Миньченко С. В. Пробиотики в рациональном кормлении животных // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания, №1(5), 2015 С. 72-78.
2. Орлова Т.Н., Дорофеев Р.В.. Пробиотики – перспектива животноводства // Мат. XII Междунар. научно-практич. конф. Алтайского ГАУ: Аграрная наука – сельскому хозяйству. - Барнаул, 2017. - С.177-180.
3. Вилкова Е.А., Ильина Н.А., Касаткина Н.М. Основы микробиологии и экологии микроорганизмов: учебное пособие – Ульяновск: УлГПУ им. И.Н. Ульянова, 2016
4. Фаритов Т.А. Корма и кормовые добавки для животных. // Учебное пособие. — СПб.: Издательство «Лань», 2010. — 304 с.
5. Красочко, П.А. Кормовая добавка с пробиотиком «Муцинол» в рационе телят / П.А. Красочко, И.В. Новожилова // Животноводство и ветеринарная медицина. — 2018. — № 4. — С. 42-45.
6. Обоснование применения пробиотиков в бройлерном птицеводстве/ А. Швыдков [и др.] // Птицеводство. –2012. –№ 12.–С. 44–48.
7. Юрина Н.А. [и др.] Выращивание поросят-сосунов на рационах с пробиотиком // Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства. – 2014. Т.3, N 7. – С.355-359.
8. Есауленко Н.Н. Применение пробиотической добавки «Споротермин» при выращивании телят / Н.Н. Есауленко, З.В.Псхациева // Известия Горского государственного аграрного университета. Т.51, ч.2, Владикавказ, 2014. – С. 103–105.
9. Учасов Д.С., Буяров В.С., Ярован Н.И., Червонова И.В., Сеин О.Б. Пробиотики и пребиотики в промышленном свиноводстве и птицеводстве: монография. – Орел: Изд-во Орел ГАУ. 2014; 164 с.

10. Проскурина, Л.И. Применение пробиотика Клострат в рационе поросят / Л.И. Проскурина, Е.А. Подвинская // Вестник инновационного евразийского университета. — 2018. — № 2. — С. 50-54.
11. Ефимова Л.В., Удалова Т.А. Эффективные микроорганизмы в кормлении крупного рогатого скота и свиней. // Гос. научно-исследовательский институт животноводства Россельхозакадемии. — 2011. — 100 с.
12. Волкова С. А., Степовой А. В., Борисенко В. В., Николаенко В. И. Пробиотическая кормовая добавка с антибиотическими свойствами для птицеводств // Молодой ученый. — 2015. — № 5.1 (85.1). — С. 4-6.
13. Омельченко Н.Н. Профилактическая коррекция микрофлоры кишечника кроликов при дисбактериозе и её влияние на иммунобиологический статус организма: дисс. ... канд. ветеринарных наук: 06.02.02 –Кубанский гос. аграрный университет им. И.Т. Трубилина, Краснодар – 148 с.
14. Замена «антибиотиков» в животноводстве. [Электронный ресурс] // Режим доступа: URL: <https://teknofeed.org/2019/08/05/livestock-antibiotics/> [Дата обращения 21.08.2020]
15. Афанасьев, В.А. Разработка технологии приготовления премиксов и оборудования для ее реализации / В.А. Афанасьев, О.В. Денисов // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. — 2014. — № 4. — С. 32-37.
16. Премиксы для сельскохозяйственных животных и птицы. [Электронный ресурс] // Режим доступа URL: <http://agropost.ru/zivotnovodstvo/korma/premiksi-dlya-sx-zhivotnih-i-ptici.html> [Дата обращения 29.08.2020]
17. Премиксы: что такое премикс и в чём его польза, премиксы для свиней [Электронный ресурс] // Режим доступа URL: <https://hozsektor.ru/premiksiy-cto-takoe-premiks-i-v-chyom-ego-polza-premiksiy-dlya-svinej> [Дата обращения 29.08.2020]

18. Технология производства премиксов. [Электронный ресурс] // Режим доступа URL: <https://studfile.net/preview/7185216/page:6/> [Дата обращения 29.08.2020].
19. Пахомов В.И. [и др.] Технологии и оборудование для производства комбикормов и премиксов: учебное пособие – Донской гос. техн. ун-т. – Ростов-на-Дону: ДГТУ, 2019. – 228 с.
20. Plotnikov, E., Korotkova, E., Voronova, O., Dorozhko, E., Bohan, N., & Plotnikov, S. (2015). Lithium-based antioxidants: Electrochemical properties and influence on immune cells. // In Physiology and Pharmacology. – 2015. – Vol. 19, Issue 2.
21. Plotnikov, E., Voronova, O., Linert, W., Martemianov, D., Korotkova, E., Dorozhko, E., Astashkina, A., Martemianova, I., Ivanova, S., & Bokhan, N. Antioxidant and immunotropic properties of some lithium salts. // Journal of Applied Pharmaceutical Science. – 2016. – №6(1). – С. 086–089.
22. Остренко, К.С. Изменения липидного обмена у супоросных свиноматок на фоне применения аскорбата лития / К. С. Остренко, В. П. Галочкина, В. А. Галочкин // Аграрный вестник Урала. — 2019. — № 7. — С. 45-50.
23. Монастырёв А.М., Фомин А.В. Повышение мясной продуктивности скота герефордской породы при использовании солей лития. // Аграрный вестник Урала. – 2011. - № 3(82). – С. 51-52.
24. Остренко К.С. Влияние литиевых солей оксиглицина и гамма-аминомасляной кислоты на стрессустойчивость, неспецифическую резистентность и продуктивность лабораторных животных и откармливаемых бычков: дисс. ... канд. биологических наук: 03.00.04 – Боровск – 150 с.
25. Галочкин В.А., Остренко К.С., Галочкина В.П. Повышение продуктивности бройлеров благодаря аскорбату лития. // Птицеводство. – 2018. - № 6. – С. 28-32.
26. Остренко К.С., Галочкина В.П., Колоскова Е.М., Галочкин В.А. Органические соли лития – эффективные антистрессовые препараты

- нового поколения. // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2017. - № 2. – С.5-28.
27. Видяев И.Г., Серикова Г.Н., Гаврикова Н.А. Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение: учебно-методическое пособие. - Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2014. –36 с.
28. ГОСТ 12.1.008-76 ССБТ. Биологическая безопасность. Общие требования: дата введения 1977-01-01. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/5200275> (дата обращения 28.05.2021). – Текст электронный.
29. ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности: дата введения 1977-01-01 – URL: <https://docs.cntd.ru/document/5200233> (дата обращения 28.05.2021) – Текст электронный.
30. ГОСТ 12.2.032-78 Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Рабочее место при выполнении работ сидя. Общие эргономические требования: дата введения 1979-01-01 – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200003913> (дата обращения 28.05.2021) – Текст электронный.
31. ГОСТ 22269-76 Система "Человек-машина". Рабочее место оператора. Взаимное расположение элементов рабочего места. Общие эргономические требования: дата введение 1978-01-01 – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200012834> (дата обращения 28.05.2021) – Текст электронный.
32. ГОСТ 12.0.003-2015 ССБТ. Опасные и вредные производственные факторы. Классификация: 2017-03-01 – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200136071> (дата обращения 28.05.2021) – Текст электронный.

33. СанПиН 1.2.3685-21. Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания: 2021-01-28 – URL: <https://docs.cntd.ru/document/573500115> (дата обращения 29.05.2021) – Текст электронный.
34. ГОСТ 12.1.003-83 ССБТ. Шум. Общие требования безопасности: 1984-07-01 – URL: <https://docs.cntd.ru/document/5200291> (дата обращения 29.05.2021) – Текст электронный.
35. ГОСТ 17187-81 Шумомеры. Общие технические требования и методы испытаний: 1982-07-01 – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200022046> (дата обращения 29.05.2021) – Текст электронный.
36. СП 12.13130.2009 Определение категорий помещений, зданий и наружных установок по взрывопожарной и пожарной опасности: 2009-05-01 – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200071156> (дата обращения 29.05.2021) – Текст электронный.
37. ГОСТ 32419-2013 Классификация опасности химической продукции. Общие требования: 2014-08-01 – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200107879> (дата обращения 29.05.2021) – Текст электронный.
38. ГОСТ 17.1.3.06-82. Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к охране подземных вод: 1983-01-01 – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200004387> (дата обращения 30.05.2021) – Текст электронный.
39. ГОСТ 17.1.3.13-86. Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к охране поверхностных вод от загрязнений: 1986-07-01 – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200003200> (дата обращения 30.05.2021) – Текст электронный.

40. ГОСТ 30775-2001 Ресурсосбережение. Обращение с отходами. Классификация, идентификация и кодирование отходов. Основные положения: 2002-07-01 – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200028877> (дата обращения 30.05.2021) – Текст электронный.
41. Российская Федерация. Законы. О защите населения и территорий от чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера: Федеральный закон No 68-ФЗ: [принят Государственной думой 11 ноября 1994 года]. –URL: <http://docs.cntd.ru/document/9009935> (дата обращения 30.05.2021) – Текст электронный.